

ZUR MORPHOLOGIE UND PHYSIOLOGIE
DER
EUGLENA GRACILIS KLEBS.

INAUGURAL-DISSERTATION
DER
HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT
DER
UNIVERSITÄT BASEL
ZUR
ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE
VORGELEGT VON
HANS ZUMSTEIN
AUS BASEL.

Leipzig
Gebrüder Borntraeger.
1899.

ZUR MORPHOLOGIE UND PHYSIOLOGIE

DER

EUGLENA GRACILIS KLEBS.

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT BASEL

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

VORGELEGT VON

HANS ZUMSTEIN

AUS BASEL.



Leipzig

Gebrüder Borntraeger.

1899.

Einleitung.

Die Euglenen haben von jeher die Aufmerksamkeit derjenigen Forscher auf sich gezogen, welche sich mit der Untersuchung der mikroskopischen Organismenwelt befasst haben. Die weite geographische Verbreitung, verbunden mit grosser Arten- und Individuenzahl, die interessanten und zugleich relativ übersichtlichen Verhältnisse des Körperbaues trugen dazu bei, dass die Euglenen mit der Zeit als Grundtypus des grossen Flagellatenreiches hingestellt wurden.

Die Geschichte der Euglenenkunde findet ihre Darstellung in den Werken von Stein (78¹⁾), Bütschli (83—87) und in der Euglenenmonographie von Klebs (83). Auf die letztgenannte, für alle späteren Untersuchungen auf diesem Gebiet grundlegende Arbeit, folgten bald einige weitere von hervorragender Bedeutung. Ich nenne besonders diejenigen von Schmitz (82 u. 84) über die Chromatophoren. Auch in dem Flagellatenwerk Bütschli's nehmen die Euglenen eine bevorzugte Stellung ein.

Aus diesen Forschungen ergab sich ein ziemlich vollständiges Bild von der Morphologie der Euglenen und ihrer nächsten Verwandten. Die vielen physiologischen Probleme der Ernährung, der Fortpflanzung u. s. w. wurden aber in den citirten Werken mehr nebenbei behandelt, häufiger discutirt eigentlich nur die Function des Membrantrichters resp. die Möglichkeit der Aufnahme geformter Nahrung und die Phototaxis.

1) Die eingeklammerten Zahlen verweisen auf das Literaturverzeichniss.

Khawkine (85 u. 86) war der Erste, welcher die Ernährungsfrage unserer Organismen experimentell in Angriff nahm. Durch ihn wurde die von andern Forschern längst gehegte Vermuthung, dass die grünen Euglenen trotz ihres Chlorophyllgehaltes in der Natur mehr oder weniger saprophytisch leben, zur Gewissheit erhoben.

Immerhin sind die Untersuchungen Khawkine's lückenhaft und seine Speculationen und Theorien halten in manchen Beziehungen einer strengern Kritik nicht Stand. Es war darum keine undankbare Aufgabe, das Problem der Ernährung der Euglenen, speciell der chlorophylhaltigen Arten einer erneuten und gründlicheren Bearbeitung zu unterziehen.

Hierin besteht der Hauptzweck der vorliegenden Arbeit.

Die *Euglena gracilis* Klebs stellte sich als ein sehr günstiges Object für derartige Experimente heraus und darum untersuchte ich einstweilen nur diese Species genauer in Bezug auf ihre Ernährung.

Daneben wurden auch einige Punkte der Morphologie, der Zelltheilung und der Zusammenhang zwischen Wachstumsgeschwindigkeit und Temperatur ins Auge gefasst; man findet dieselben in dem „Morphologie“ überschriebenen Capitel des speciellen Theils besprochen.

Einige, vorwiegend die genauere Organisation der Euglenen betreffende Verhältnisse sind durch die neuesten Arbeiten von Klebs (92) Franzé (93), Fischer (94), Keuten (95) aufgehell't worden. Ich hoffe, dass meine Abhandlung dazu beitragen möge, auch in physiologischer Hinsicht die Kenntniss der so unendlich reichen und anziehenden Welt der niedern Organismen zu fördern und zu ergänzen.

Die Arbeit wurde im neuen botanischen Institut in Basel ausgeführt. Es sei mir vergönnt, an dieser Stelle meinen hochverehrten Lehrern Herrn Prof. Dr. G. Klebs, welcher die Freundlichkeit hatte, mich auf die interessanten Aufgaben hinzuweisen, und Herrn Dr. W. Benecke, unter dessen Leitung ich die Arbeit zum Abschluss brachte, herzlich zu danken für die vielen und werthvollen Rathschläge, die sie mir zu Theil werden liessen.

Allgemeiner Theil.

Eine continuirliche Formenreihe führt von den Eugleniden zu den Astasiiden¹⁾. Alle Unterscheidungsmerkmale, welche bisher von der systematischen Forschung herangezogen wurden, um die beiden genannten Unterfamilien der Euglenoidinen zu trennen, haben sich als mehr oder weniger unhaltbar erwiesen.

Die auffälligste Thatsache, welche die Euglenen vor den Astasien auszeichnet, ist der Chlorophyllgehalt. Nun giebt es aber zahlreiche farblose Euglenen, welche mit gewissen grünen Formen in allerengster Beziehung stehen. Für die *Euglena gracilis* wird im Laufe der Untersuchung der Beweis erbracht werden, dass sie sowohl in einer grünen wie in einer farblosen Varietät erscheinen kann²⁾.

Ferner gilt der Besitz eines Stigmas als Unterscheidungsmerkmal zwischen den ungefärbten echten Euglenen und den ebenfalls chlorophyllfreien Astasien; doch auch diese Thatsache hat nur relativen Werth.

Der wichtigste Grund, welcher für eine Trennung der Genera *Euglena* und *Astasia* spricht, liegt vielleicht in der verschiedenen Art der Zelltheilung (Klebs 83 p. 293 u. 92 p. 356). Die Astasien theilen sich nicht, wie die meisten Euglenen, innerhalb einer Schleimhülle und nicht in Ruhe, sondern im beweglichen, geisseltragenden Zustand. Die beiden Theilungsmodi unterscheiden sich aber nur unbedeutend und der Unterschied wird bei besserer Kenntniss der Theilungsvorgänge von einer grösseren Zahl von Arten seinen Werth als Familienmerkmal mit der Zeit wohl auch verlieren.

Auch hinsichtlich der Ernährungsweise kann man gegenwärtig keinen Unterschied zwischen einer (unter allen Umständen) farblosen *Euglena* und einer echten *Astasia* finden. Beide Organismen ernähren sich rein heterotroph. Die grünen Euglenen sind dagegen im Stande, sich autotroph, mit Hilfe ihrer Chromatophoren zu ernähren³⁾.

1) Was die Systematik anbetrifft, so halte ich mich an die Terminologie der Euglenenmonographie und der Flagellatenstudien von Klebs.

2) Cfr. Anm. 2, p. 7.

3) Die folgende kleine Uebersicht (p. 4) diene zur Erläuterung der späterhin gebrauchten Bezeichnungen für die verschiedenen Arten der Ernährung.

Nun zeichnen sich aber auch die chlorophyllgrünen Species bekanntlich dadurch aus, dass sie mit Vorliebe Orte bewohnen, an denen organische Substanz in Fäulniss begriffen ist. Die meisten Arten der Gattung *Euglena* sind charakteristische Bewohner der Mistpfützen der Dörfer und der Viehweiden, faulender Sümpfe u. s. w.

Es ist darum schon lange vermuthet worden, dass auch die grünen Euglenen aus ihrer Umgebung vorgebildete organische Substanzen aufnehmen und in ihren Stoffwechsel ziehen, obwohl noch nie die Frage behandelt wurde, ob es sich wesentlich um C- oder um N-haltige organische Stoffe oder auch um Ammonverbindungen handelt. Es möge nur eine Stelle aus der grossen Literatur citirt sein:

„Die farblosen Varietäten der grünen Eugleniden bilden die Uebergangsformen zu den ausschliesslich saprophytisch sich ernährenden Astasiiden. Leider können wir den Saprophytismus nicht in jedem Falle sicher beweisen. Doch ist es in hohem Grade wahrscheinlich, dass bereits grüne Euglenen neben ihrer Kohlenstoffassimilation direct organische Stoffe aus ihrer Umgebung aufnehmen.“ Klebs (92, p. 354). Vgl. auch Bütschli (87, p. 866/67).

Khawkine (86, p. 322—346) war, wie erwähnt, bis jetzt der

Synonyme.

Art der Ernährung:	Bezeichnung nach Pfeffer (Physiol., II. Aufl.):	Andere Autoren:
Assimilation der CO ₂ und der unorgan. Salze	autotroph	{ holophytisch (z.B. Bütschli, Klebs) autophytisch (z. B. Beyerinck 98). pflanzlich (Klebs 92).
Aufnahme organ. Nahrung; daneben CO ₂ -Assimilation	mixotroph	halbsaprophytisch.
Nur Aufnahme vorgebildeter Nahrung (C, N und unorgan. Salze)	heterotroph	rein saprophytisch.

Die autotrophe (genauer die in Bezug auf den Kohlenstoff a.) und die mixotrophe Ernährung der grünen Organismen sind an Beleuchtung geknüpft. Die heterotrophe Lebensweise ist durch Lichtabschluss oder durch Mangel an Chloroplasten bedingt; im ersteren Fall sind die Chromatophoren functionslos; im zweiten ist die Beleuchtung (Licht bezw. Dunkelheit) ohne directen Einfluss auf die Art der Ernährung.

Die animalische Lebensweise kommt bei Euglenen und Astasiiden nicht vor.

In der Regel werde ich mich an die Ausdrucksweise des Pfeffer'schen Handbuchs halten.

Einzig, welcher die Frage durch das Experiment zu lösen versuchte.

Er brachte eine Kultur der *Euglena viridis* in organ. Nährlösung in die Dunkelheit und beobachtete, dass selbst nach 39 Tagen noch manche Euglenen in freier Bewegung waren. Unser Autor folgert daraus, dass sie organische Substanz aufnehmen können und dass sie in hohem Maasse die Fähigkeit besitzen, ungünstige Zeiten der Ernährung zu überstehen. Er hält es aber, seltene Fälle ausgenommen, nicht für möglich, die Aufnahme organischer Substanz mit Sicherheit direct nachzuweisen:

„.... C'est surtout parce que pour un organisme habitué dans son état normal à se soutenir par l'un et par l'autre aliment (organique et inorganique), l'absence de l'un de ces aliments doit présenter une privation très sensible, l'organisme s'en doit ressentir et son développement en doit être arrêté.“ p. 333.

Es werde vielmehr nur möglich sein, die Frage indirect zu beantworten. Khawkine schliesst folgendermassen: Wenn eine blühende Kultur eines Organismus, von dem man vermuthet, dass er organische Substanz aufnimmt, im Dunkeln allmählich zu Grunde geht (wie dies bei *E. viridis* thatsächlich der Fall ist), so ist damit nur bewiesen, dass dem betr. Organismus im Dunkeln einige nothwendige Bedingungen zu einer normalen Entwicklung fehlen. Wenn er andererseits in unorganischen Nährlösungen am Licht nicht gedeiht, so beweist dies noch nicht, dass er die CO_2 nicht assimiliren kann, sondern nur, dass organische Stoffe (im weitern Sinne des Worts) zu seiner vollen Entfaltung mehr oder weniger erforderlich sind, unter Umständen auch, dass ihm die unorganischen Salze nicht in richtiger Mischung zur Verfügung standen. Somit beweist das Degeneriren der schönsten Kultur von *E. viridis* durch Lichtabschluss und die völlige Hemmung aller weiteren Entwicklung¹⁾, dass für diese Euglene die CO_2 -Assimilation eine nothwendige Lebensthätigkeit ist. Andererseits sind organische Stoffe, wenigstens zu einer gedeihlichen Vermehrung unerlässlich. „L'absence d'éléments organiques affaiblissait l'*E. viridis* autant que l'absence de la clarté.“ p. 337²⁾.

Die Aufnahme organischer Substanz im Licht macht Khawkine durch einige Versuche sehr wahrscheinlich.

1) „Les Euglènes dans l'obscurité, ne se multiplient pas.“ l. c., p. 334.

2) Es ist mir unerklärlich, wie dann Khawkine (p. 341) wieder behaupten kann, dass die Euglenen nur im Dunkeln organische Substanz aufnehmen.

In reinem Brunnenwasser gediehen die Euglenen nur ganz kümmerlich, sowie aber dem Wasser einige Tropfen Hühnereiweiss zugesetzt wurden, viel kräftiger. Auch in dem Decoct von Kartoffeln vermehrte sich die Euglene am Licht intensiv, aber nur, wenn die Lösung nicht vorher wiederholt filtrirt und dadurch ihrer Colloidsubstanzen (Eiweiss und Stärke) beraubt wurde.

Im Ganzen spürten die Euglenen viel eher den Lichtmangel als das Fehlen der organischen Substanzen.

Dies sind die Hauptpunkte der Arbeit Khawkine's, soweit sie sich auf die Ernährung bezieht.

An der Richtigkeit der wichtigeren Schlussfolgerungen ist wohl kaum zu zweifeln; immerhin dürfen einige kritische Bemerkungen nicht unterdrückt werden.

Khawkine nahm bei der Kultur der Euglene in organischen Flüssigkeiten keine Rücksicht auf die Bakterien und operirte auch nicht mit Reinkulturen. Es könnten also leicht unter den Individuen der Species *viridis* noch andere, ähnlich aussehende Arten verborgen gewesen sein und das Ergebniss der Versuche zweifelhaft gemacht haben.

Doch resultirt wohl soviel mit grosser Wahrscheinlichkeit aus der Untersuchung, dass für die *E. viridis* in erster Linie die photosynthetische CO_2 -Assimilation in Betracht kommt und dass sie sich im Dunkeln (in organischer Nährlösung) nicht vermehrt. Ihr Leben ist also an die Gegenwart des Lichtes gebunden.

Ganz anders verhält sich die von mir untersuchte *Euglena gracilis* Kl. Die *Euglena gracilis* ist im Stande, sich je nach den Lebensbedingungen rein autotroph oder rein heterotroph zu ernähren. Am besten gedeiht sie jedoch bei mixotropher Lebensweise.

Dies das Hauptresultat der vorliegenden Arbeit, das an bakterienfreien Reinkulturen gewonnen wurde.

Indem wegen aller Einzelheiten auf den speciellen Theil verwiesen sei, führe ich hier nur noch Folgendes an: Ein ähnliches Verhalten wie die *E. gracilis* zeigen nach Beyerinck (98) einige niedere grüne Algen.

„Verschiedene niedere Algen werden in ihrem Wachsthum ausserordentlich gefördert durch die Gegenwart organischer Nahrung. Sie werden dabei gänzlich unabhängig vom Licht und erzeugen, z. B. auf Malzgewürzgelatine selbst bei Fortsetzung während mehrerer Jahre in absoluter Dunkelheit massenhaft tiefgrünes Algen-

material. Inzwischen habe ich mich überzeugt, dass solche Kulturen im Lichte wieder im Stande sind, sich unorganisch zu ernähren und CO_2 zu zerlegen. Auf diese Weise gelingt es *Chlorosphaera*, *Cystococcus*, *Stichococcus*, (mit *Pleurococcus* habe ich noch keine Versuche gemacht, doch wird das nämliche dafür gelten) entweder als Saprophyten oder als Autophyten zu kultiviren.“

Unsere Euglene ist nicht nur in Bezug auf den Kohlenstoff heterotroph, vielmehr sind es gerade organische N-Verbindungen, die ihr vorwiegend von Nutzen sind; sie könnte aber, streng genommen, in jedem der von Beyerinck (90, p. 732 Anm.) vorgeschlagenen Mikrobensysteme untergebracht werden. Am besten wird man sie allerdings den Pepton-Kohlenstoffmikroben zuzählen; die Vermehrung ist entschieden am kräftigsten, wenn neben Pepton noch eine organische Kohlenstoffquelle zur Verfügung steht.

Mit der Art und Weise der Ernährung steht die Ausbildung der Chromatophoren im engsten Zusammenhang. Bei autotropher und besonders bei mixotropher Lebensweise sind die Farbstoffträger als schöne Chloroplasten entwickelt, bei der Kultur im Dunkeln, also bei heterotropher Lebensweise, beinahe verkümmert und auf winzige Leukoplasten reducirt, die nur mittelst Tinction entdeckt werden können¹⁾. Die im Dunkeln erzogene, bisher nicht beschriebene farblose Form der *E. gracilis* könnte u. U. mit einer beliebigen chlorophyllfreien andern Euglene oder mit einer *Astasia*-species identificirt werden. Durch passende Kulturmethoden gelingt es, nach Belieben die Euglene in der grünen oder in der farblosen Form zu erziehen, ferner auch leicht die eine Form in die andere umzuwandeln²⁾. Die grüne Form wird durch längeren Aufenthalt im Dunkeln oder durch sehr reiche organische Nahrung am Licht farblos; die farblose Form bildet am Licht ihre Leukoplasten in Chloroplasten um und ergrünt zur typischen *E. gracilis* Klebs. Für alle Details sei auf p. 33 ff. verwiesen.

Inwieweit die besprochenen Verhältnisse auch für die übrigen zahlreichen Arten der Gattung *Euglena* Geltung haben, müssen

1) Hierin liegt also ein Unterschied gegenüber den eben erwähnten Beyerinck'schen Versuchsobjecten.

2) Astasien sind wohl noch nie auf Leukoplasten untersucht worden; falls sie keine solchen besitzen, so läge darin wahrscheinlich ein durchgreifender morphologischer Unterschied zwischen Astasien und farblosen Euglenen.

weitere Untersuchungen lehren. Sehr wahrscheinlich wird es mit der Zeit gelingen, manche der z. B. in der Monographie von Klebs (83) beschriebenen farblosen Euglenen¹⁾ in grüne Varietäten umzuwandeln und noch weniger Schwierigkeiten wird voraussichtlich das umgekehrte Verfahren darbieten. Es darf aber auch nicht ausser Acht gelassen werden, dass wohl einzelne der farblosen Formen sich schon zu selbstständigen Arten entwickelt und ihre physiologischen Eigenschaften soweit fixirt haben, dass sie sich nur noch saprophytisch ernähren können. Eine solche selbstständig gewordene Varietät scheint die *E. viridis* γ *hyalina* Klebs zu sein. Sie wird vermuthlich besser mit dem alten Ehrenbergschen Namen als *E. hyalina* bezeichnet. Dagegen ist es immer noch fraglich, ob ähnliches für die vielumstrittene, von Klebs als *E. viridis* β *olivacea* benannte Euglenenform gilt. Schmitz (84, p. 32 u. 33) vertheidigt sie als besondere Species (*E. olivacea*); Khawkinge wiederum, allerdings nicht auf Reinkulturen gestützt, betont ihren innigen Zusammenhang mit der Hauptform.

Viele Fragen sind also noch aufzuhellen; jedenfalls ist aber durch den Nachweis des unmittelbaren Zusammenhangs einer grünen Euglene (*E. gracilis*) mit einer absolut farblosen eine wichtige, auf Unterschiede in der Ernährung gegründete, Schranke zwischen den Gattungen *Euglena* und *Astasia* definitiv beseitigt worden. Darauf muss bei späteren und besonders bei systematischen Bearbeitungen der Abtheilung der Euglenoidinen Rücksicht genommen werden.

Ganz ähnlich wie unter den Euglenoidinen die Gattungen *Euglena* und *Astasia* nur durch willkürlich gesteckte Grenzen von einander getrennt werden können, so giebt es auch bei fast allen andern Flagellatenfamilien Parallelförmigen, Arten bzw. Gattungen von denen die einen farblos, die anderen im Besitz von Chromatophoren sind.

Es sei hier nur an einige wenige Beispiele erinnert.

Die meisten gelben Flagellaten, die Chrysomonadinen, ernähren sich pflanzlich mit Hilfe ihrer Farbstoffplatten; andere, eng damit verwandte Formen, obschon im Besitze von Chromatophoren,

1) Farblose Varietäten sind z. B. von *Euglena viridis* (φ), *sanguinea*, *deses* β *intermedia*, auch von *Phacus pleuronectes*, *Trachelomonas volvocina* u. s. w. bekannt. Von *Trachelomonas reticulata* kennt man andererseits nur die farblose Form.

ernähren sich mehr thierisch durch Aufnahme geformter Nahrung¹⁾. Klebs (92, p. 404). Viele Formen endlich haben so kümmerliche Farbstoffträger, dass bei ihnen die Ernährung jedenfalls mixotroph und zwar vorwiegend heterotroph sein wird. Vergl. Meyer (97, p. 75).

Unter den Cryptomonadinen ernährt sich *Chilomonas* *Paramecium* rein heterotroph, die sehr nahe damit verwandte *Cryptomonas erosa* autotroph (? mixotroph).

In der Abtheilung der Volvocineen sind z. B. die Gattungen *Polytoma* und *Chlamydomonas* sehr interessante Parallelförmigen; auch unter den Peridineen giebt es farblose, animalisch oder saprophytisch lebende Arten.

Man kann sogar ganze Reihen von Genera, die verschiedenen Abtheilungen des Flagellatenreiches angehören, morphologisch ziemlich weitgehend mit einander in Parallele setzen. So giebt Francé (94, p. 74) die folgende Zusammenstellung.

Chlorophyllfreie Formen (Polytomeen).	Grüne Formen (Volvocineen).	Braune Formen (Chrysomonadinen).
<i>Polytoma</i>	<i>Chlamydomonas</i>	<i>Hymenomonas</i>
<i>Chlamydolepharis</i>	<i>Kleiniella</i>	<i>Chrysopyxis</i>
<i>Seyamina</i>	<i>Eudorina?</i>	<i>Synura</i>
?	<i>Physocytium</i>	<i>Stylochrysalis</i>

Es darf wohl vermuthet werden, dass sich bei gründlicher Revision und besserer Kenntniss der physiologischen Eigenthümlichkeiten die Zahl der selbstständigen farblosen Formen relativ reduciren wird.

Specieller Theil.

I. Methodisches.

Ueber die Bedeutung und den Werth der Reinkultur im Allgemeinen brauche ich wohl keine Worte zu verlieren. Für alle exacten Untersuchungen, nicht nur der Bakteriologie, sondern der gesammten Pilz- und Algenforschung, werden die Methoden der

1) Wie unter den Euglenoidinen die Peranemiden; nur sind diese chromatophorenfrei.

2) Besitzt wie die farblose Form der *E. gracilis* Leukoplasten. Fisch (85, p. 59).

Reinkultur in neuerer Zeit allgemein angewandt; und zwar wird immer ausdrücklicher betont: der Ausgangspunkt, wenigstens für die erste wirklich reine Kultur, muss eine einzige Zelle sein. Es sei in dieser Beziehung auf Klebs (96, p. 182 ff.) verwiesen.

Selbstverständlich wurden auch bei *E. gracilis* die entscheidenden Versuche nur mit Reinkulturen ausgeführt. Dies war besonders nothwendig bei einem Organismus, der eben so gut in Form einer Euglene wie in Form einer *Astasia* erscheinen kann.

Bei der relativ bedeutenden Grösse des Objects (beinahe $\frac{1}{10}$ mm und schon gut mit blossen Auge sichtbar) ist es nicht schwierig, unter dem Mikroskop aus einem Tropfen mit Euglenen ein einziges Individuum herauszufischen. Dasselbe wird in eine sterilisirte gute Nährlösung übertragen, und wenn es sich genügend vermehrt hat das Isolirungsverfahren, wenn nöthig, wiederholt, um alle andern, auch die kleineren noch aus dem Ausgangsmaterial stammenden Mikroorganismen auszuschliessen.

Bei der Behandlung physiologischer Fragen müssen aber nicht nur die ähnlich aussehenden Formen, sondern auch die Bakterien eliminirt werden.

Es ist Beyerinck (90) zuerst gelungen, niedere Algen unter Ausschluss der Bakterien und zwar auf Gelatine zu kultiviren. Nun ist aber diese Methode aus verschiedenen Gründen oft nicht geeignet, sichere Aufschlüsse über die Ernährung der kultivirten Organismen zu geben. Zunächst ist es rein praktisch mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden, Gelatinekulturen, die während eines längeren Zeitraums häufig untersucht werden müssen, bakterienfrei zu erhalten (cfr. Klebs 96, p. 183). Ferner ist die chemische Zusammensetzung des Substrats nicht genau bekannt, also auch nicht die von den Algen verbrauchten Stoffe; endlich können sicher viele frei bewegliche Organismen nicht auf fester Unterlage wachsen. Auf solche Formen ist die Methode überhaupt nicht anwendbar und bei einem zu langsamen Wachsthum gewinnen sehr leicht die im Ausgangsmaterial immer vorhandenen Bakterien die Oberhand¹⁾. Besonders schwierig ist die Aufgabe, wenn es sich um ausgesprochene Saprophyten handelt.

Bei *E. gracilis*, die ich anfangs nur in stark faulenden Flüssigkeiten kultivirte, hätte die Methode Beyerinck's kaum zu

1) So verhält es sich z. B. mit *Polytoma uvella*; alle meine Bemühungen, von ihr bakterienfreie Kulturen zu gewinnen, waren bis jetzt erfolglos.

bakterienfreien Kulturen geführt. Hier gelingt es auf einem andern und sehr einfachen Wege, weil diese Euglene relativ viel freie Säure erträgt.

Ein kleiner Tropfen aus einer Reinkultur, im Allgemeinen ein buntes Gemisch von Euglenen und Spaltpilzen, wird in eine sterilisirte organische Nährlösung (z. B. Erbsenwasser), welche überdies 2% Citronensäure enthält, übertragen. Die Mehrzahl der Euglenen bleibt darin am Leben und entwickelt sich bald sehr kräftig; während die mit in die Flüssigkeit hineingelangten säureempfindlichen Bakterien in ihrer Vermehrung fast total gehemmt werden. Durch wiederholte Anwendung dieser Methode kommt man leicht und relativ schnell zu bakterienfreien Kulturen.

Dass das gewünschte Ziel auf diese Art wirklich erreicht wird, zeigt die Thatsache, dass gewöhnliches, säurefreies Erbsenwasser, bekanntlich ein äusserst günstiger Boden für Bakterienvegetation, völlig klar bleibt und nicht fault, wenn es unter Beobachtung der nöthigen Vorsichtsmaassregeln mit einem Tropfen aus einer, in der beschriebenen Weise gewonnenen Euglenenkultur geimpft wird.

Hat man dann einmal eine bakterienfreie Kultur, so ist natürlich der Zusatz von Säure späterhin nicht mehr nothwendig; und wenn die Kultur auch im Uebrigen rein ist, so können nun beliebige organische Nährlösungen in einwandfreier Weise auf ihren Nährwerth geprüft werden.

Als Kulturgefässe benützte ich meist Glasdosen mit lose übergreifendem oder aufgeschliffenem Deckel¹⁾. Für Versuche, die sich über einen längeren Zeitraum erstrecken, sind dagegen Erlenmeierkolben von 50—200 g Inhalt praktischer.

Das Volumen der Nährlösung betrug gewöhnlich 40—50, selten unter 20, häufig über 100 ccm. Die *E. gracilis* vermehrt sich so lebhaft, dass man sehr wohl ohne zu viel Zeitverlust mit grösseren Kulturen operiren kann. Die so gewonnenen Resultate sind auch bedeutend zuverlässiger, weil bei einem zu kleinen Kulturgefäss die äusseren Bedingungen, z. B. die Temperaturschwankungen viel unvermittelter zur Geltung kommen.

Kulturen in feuchter Kammer wurden selten und nur zu besonderen Zwecken angewandt.

1) Es ist auch bei gut verschlossenen Gefässen nicht zu befürchten, dass Sauerstoffmangel eintritt.

II. Morphologie der Species.

A. Der Bau des Körpers.

Die *E. gracilis* ist in allen wesentlichen Punkten gebaut wie die übrigen Arten der Gattung. Es war nicht meine Absicht, eine vollständige morphologische Beschreibung zu liefern. Für alle Détails der Organisation des Euglenenkörpers muss auf die Eingangs citirten Arbeiten von Klebs (83), Schmitz (84), Bütschli (87) u. s. w. und auf die Specialuntersuchungen einzelner Zellbestandtheile durch Klebs (92, Organisation des Vorderendes), Franzé (93, Stigma), Fischer (94, Cilie), Keuten (95, Kerntheilung) verwiesen werden.

Die erste, und, so viel mir bekannt, einzige in der Literatur vorhandene Beschreibung unserer Euglene giebt ihr Entdecker Klebs (83, p. 303).

Jene Speciesdiagnose kann, in einigen Punkten gegen früher verändert, etwa so gefasst werden.

Euglena gracilis Klebs (mittl. Länge ca. 63 μ ; mittl. Breite ca. 10 μ):

Körper während der Schwimmbewegung lang gestreckt cylindrisch bis schmal eiförmig. Cilie wenig empfindlich, ungefähr von Körperlänge. Farbstoffträger als Chloroplasten oder Leukoplasten ausgebildet; je nachdem erscheint die Euglene in einer grünen oder in einer farblosen Form. Im ersteren, in der Natur gewöhnlichen Falle, etwa 10 scheibenförmige, im Umriss rundliche oder polygonale Chromatophoren, jeder mit Paramylonkern. Zellkern meist central. Zelltheilung (d. h. Theilung der Membran) im beweglichen Zustande; nur ausnahmsweise in Ruhe innerhalb einer dünnen Schleimhülle.

Körperform im Allgemeinen. Schwimmbewegung und Metabolie.

Der Habitus der *E. gracilis* wechselt sehr mit den Kulturbedingungen. Die Figuren der Tafel geben nur eine kleine Auswahl der wichtigsten Formtypen. Zu dieser Mannigfaltigkeit tragen wesentlich drei Factoren bei: Die grösseren oder kleineren Dimensionen des Körpers, das Vorhandensein resp. Fehlen des Chlorophyllfarbstoffs und die mehr oder weniger starke Ausbildung des Paramylons.

In letzter Linie ist alles von der chemischen Zusammensetzung der Nährlösung abhängig; doch kaum so, dass einer ganz bestimmten Versuchsanstellung stets genau dieselbe Euglenenform entspricht.

Die Schwimmbewegung besteht in einer ziemlich lebhaften schraubenlinigen Vorwärtsbewegung.

Die Metabolie ist weder in Bezug auf die Form noch hinsichtlich der Intensität so charakteristisch wie für einige andere Euglenenspecies. Bizarre metabolische Gestaltsveränderungen, die ganz an diejenigen der *E. deses* β *intermedia* erinnern, zeigt *E. gracilis* auf festen Substraten am Licht (Fig. 8, Taf. VI). Der Körper dehnt sich in der Richtung einer Querachse zu einer dünnen, breiten und ihren Umriss stets verändernden Platte aus.

Dimensionen der Zelle (excl. Cilie).

Die Dimensionen des Körpers sind bedeutenden Schwankungen unterworfen. Sie sind in guten Nährlösungen in der Regel grösser als in schlechten, bei lebhafter Vermehrung geringer als bei langsamem Wachstum. Nicht selten steigen sie für eine bestimmte Nährlösung mit der Concentration der Nahrungsstoffe.

Nähere Auskunft giebt die Tabelle (p. 14). Die Messungen beziehen sich nur auf völlig ausgestreckte, ziemlich genau cylindrische grösste Exemplare in der betr. Nährlösung.

Aus 35 Messungen, von denen manche selbst wieder Durchschnittszahlen waren, ergaben sich folgende Dimensionen für die *E. gracilis*.

	Minimum	Mittel	Maximum
Länge μ	37	63	88
Breite μ	5,7	10	22,5
Volumen (angen.) μ^3 . .	950	4950	35 000 (= 0,000 035 cmm)

Verhältnisszahlen:

Mittl. Länge: mittl. Breite = 6,3 Max. Breite: min. Breite = 4
 Max. Länge: min. Länge = 2,4 Max. Volumen: min. Volumen = 37.

Von den Organen der Zelle will ich aus schon angeführten Gründen nur das Stigma und die Chromatophoren besprechen.

Im Allgemeinen gilt der Besitz eines Stigmas als Unterscheidungsmerkmal zwischen farblosen Euglenen und echten Astasien.

Nun hat aber Khawkine (85) eine *Astasia ocellata* beschrieben, die gerade durch einen Augenfleck gekennzeichnet ist. Allerdings darf darauf nicht allzu viel Werth gelegt werden. Es ist einerseits nicht undenkbar, dass die *Astasia ocellata* in Wirklichkeit eine farblose Euglenenspecies darstellt; andererseits ist auch bei echten Euglenen das Stigma oft bis zur Unkenntlichkeit reducirt (cfr. Klebs 83, p. 291).

	Kulturflüssigkeit	μ Länge	μ Breite
1	Erbsenwasser mit Mehl *	54	9
2	Erbsenwasser *	51,8	9
3	1% Erbsenwasser *	54—61	7—9
4	2% Erbsenwasser, säurefrei	58	17
5	8% Erbsenwasser, säurefrei	99	13,5
6	0,5% Erbsenwasser + 0,5% acid. citr.	67,5	6,8
7	Johannisbeersaft; schwache Lösung	61 (M ₁₂)	6,3 (M ₁₂)
8	" ; stärkere Lösung	88,4 (M ₁₂)	10,5 (M ₁₂)
9	Pflaumensaft	67—90	11
10	0,2% Knop'sche Nährlösung + 0,5% Aspar.	51,8	6,8
11	1% Asparagin + 0,5% acid. citr.	54	9
12	0,5% Pepton + 0,5% Traubenzucker	50—60	7—9
13	2% Traubenzucker; keine Säure	65	11
14	2% Milchezucker + 0,5% acid. citr.	46	6,8
15	2% Raffinose + 0,5% acid. citr.	54	6,8
16	2% Fleischextract; säurefrei *	60,5	7
17	Erbsenwasser + 1 Tropfen conc. HCl.	65,5	8
18	" + 1 " H ₂ SO ₄	55	6,5
19	" + 1 " H ₃ PO ₄	62	7,1
20	" + 1% acid. citr.	69	6,5
21	" ohne Säure	70,8	8,7
22	0,2% Knop'sche Nährlösung	64,4	7,4

Anmerkung. Die Euglenen wurden zur Erleichterung der Messung vorher mit Jodjodkallium fixirt. Sie verändern dabei ihre Grösse nicht. M₁₂ = Mittel aus 12 Einzelmessungen. * bedeutet gewöhnliche, nicht bakterienfreie Kulturen.

Die Grösse des Augenflecks ist auch bei *E. gracilis* ausserordentlichen Schwankungen unterworfen; in der Regel ist er bei der farblosen wie bei der grünen Form schön ausgebildet. Sehr wahrscheinlich hängt dies mit den Kulturbedingungen zusammen; doch konnte ich keinen bestimmten Zusammenhang nachweisen.

Bezüglich der Chromatophoren¹⁾ gilt Folgendes: Sind sie

1) Es liegt eigentlich ein innerer Widerspruch darin, die Leukoplasten auch als Chromatophoren zu bezeichnen; es giebt aber einstweilen keinen guten, beide Gebilde umfassenden Ausdruck.

als Chloroplasten ausgebildet, so sind sie im typischen Falle scheibenförmig, im Umriss rundlich oder polygonal bis lappig begrenzt. Sie liegen oft so dicht beisammen, dass der Körper der ganzen Länge nach „homogen“ grün gefärbt erscheint.

Die Leukoplasten entstehen aus den Chloroplasten beim Uebergang der Euglene zur rein heterotrophen Lebensweise. Die Zahl und Grösse der Chloroplasten nimmt ab; das Pigment verschwindet im extremsten Fall vollständig. Bei directer mikroskopischer Untersuchung lässt sich gewöhnlich keine Spur der tatsächlich immer vorhandenen Leukoplasten entdecken. Ihr Nachweis geschieht am schnellsten mittelst Tinction. Sehr gut bewährte sich folgende Methode: Fixiren mit Chromessigsäure (Zusammensetzung siehe Strasburger, Bot. Pract. III. A. p. 353); flüchtig abspülen, nicht auswaschen, in Wasser; färben mit einer sehr verdünnten wässerigen Lösung von Gentianaviolett; langsam antrocknen lassen auf dem Objectträger; Xylol; Canadabalsam.

Jeder Chloroplast und sehr wahrscheinlich auch jeder Leukoplast besitzt ein mehr oder weniger stark ausgebildetes Pyrenoid (von Klebs als Paramylonkern bezeichnet). Dasselbe ist auf beiden Seiten des Chromatophors mit je einer runden oder länglichen, uhrglasförmig gebogenen Paramylonschale bedeckt, also ein sogenanntes „beschaltet“ Pyrenoid (Klebs 83, Schmitz 84). In Wirklichkeit besteht es vielleicht aus zwei selbstständigen Hälften, da die zugehörigen Paramylonschalen häufig in Bezug auf die Ebene des Chromatophors nicht concentrisch liegen.

Von der autotroph sich ernährenden, oft wunderschön und meist etwas gelblich-grün gefärbten *E. gracilis* führen nun alle nur denkbaren Bindeglieder hinüber zu der gänzlich farblosen, rein heterotroph lebenden Form. Doch kann man aus dieser grossen Schaar zweckmässig einige Typen absondern. Sie seien der Kürze halber mit α , β , γ bezeichnet, analog und vielleicht auch homolog den von Klebs ebenso benannten Varietäten einiger Euglenenspecies; α und γ sind die Endglieder einer dem Grade der Heterotrophie parallel verlaufenden morphologischen Formenreihe der betreffenden Species.

1. *E. gracilis* α .

Mit 10—30 grösseren oder kleineren scheibenförmigen polygonalen Chloroplasten. Körper in der Regel zart homogen gelblich-grün gefärbt. Jeder Chloroplast mit einem beschalteten Pyrenoid.

Protoplasma mit wenig, zuweilen mit gar keinem Paramylon. Excretkörnchen und andere Inhaltsbestandtheile fehlen. Charakteristische Form der Euglene am Licht in organischen oder unorganischen Nährlösungen (Fig. 1 u. 2, Taf. VI).

2. *E. gracilis* γ .

Entspricht in allen Beziehungen der Form α , ist aber in Folge des Mangels an Chlorophyll farblos. Chromatophoren als kleine Leukoplasten ausgebildet. Form der *E. gracilis* in organischen Nährlösungen bei Lichtabschluss oder in sehr reicher organischer Nahrung am Licht (Fig. 4, Taf. VI).

3. Für manche Zwecke ist es praktisch, noch eine dritte Form, *E. gracilis* β zu unterscheiden. Sie steht sowohl mit Rücksicht auf die Ausbildung der Chromatophoren als der Art ihrer Ernährung zwischen α und γ . Mit, gewöhnlich kreisrunden, Chloroplasten in geringer Grösse und Zahl. Meist mit viel Paramylon. Häufigste Form der *E. gracilis* am Licht in reicher organischer Nährlösung (Fig. 3, Taf. VI).

B. Die Zelltheilung.

Es dürfte nicht überflüssig sein, zunächst einige Punkte allgemeiner Natur, die sich auf die Theilungsvorgänge der Euglenoidinen beziehen, kurz in's Auge zu fassen.

Wie die meisten Flagellaten, so vermehren sich sowohl die Euglenen wie die Astasien stets durch Längstheilung, nie durch Quertheilung, aber im Uebrigen nach zwei verschiedenen Typen.

Die Theilung der inneren Organe (Kern, Stigma, Hauptvacuole) vollzieht sich bei den Eugleniden in Ruhe, nach Verlust der Cilie, dagegen die Durchschnürung der Membran entweder auch in Ruhe (Mehrzahl der Arten), oder aber während der Ausbildung der Tochtergeisseln d. h. im beweglichen Zustand (z. B. oft bei *E. viridis* γ *hyalina* und fast immer bei *E. gracilis*).

Bei den Astasiiden wird — soweit bekannt — die Cilie vor der Theilung nicht abgeworfen; und die Theilung der inneren Organe wie die der Membran geschieht im geisseltragenden beweglichen Zustand¹⁾.

1) In Bezug auf die Zelltheilung der *Astasia ocellata* drückt sich Khawkinge (85, p. 46) nicht ganz klar aus; doch scheint die Geissel nicht abgeworfen zu werden.

Der Unterschied ist also nur geringfügig. Zudem ist die Theilung bei vielen Arten noch nicht gesehen worden; und mit der Zeit werden sicher auch Bindeglieder bekannt, Astasien, welche die Geissel abwerfen bezw. Euglenen, welche sie beibehalten. Die Theilung der Euglenen wird deshalb im Folgenden stets als „Theilung im beweglichen Zustand“ bezeichnet werden, wenn die Theilung der Membran, das äusserlich den Vorgang charakterisirende Moment, während der Ausbildung der Cilien der Sprösslinge stattfindet.

Die Theilung vollzieht sich also bei den Euglenen nach Verlust der Cilie, aber im Einzelnen auf sehr mannigfaltige Weise. Einige Arten theilen sich im ausgestreckten, andere im eiförmig bis kugelig abgerundeten Zustand; manche analog den Astasiiden nackt, andere unter dem Schutze einer schleimigen oder häutigen Hülle (Theilungscyste). Auch die Hüllenbildung ist keine nothwendige, bei jeder Species die Theilung in bestimmter Weise begleitende Erscheinung. „*E. viridis*, *deses* u. A. bilden häufig in Feuchtkammer-Kulturen keine Hülle, sondern theilen sich nackt“ (Monographie, p. 281).

In Hinsicht auf diese Mannigfaltigkeit kann man die wichtigeren Species der Gattung *Euglena* folgendermassen gruppiren. (Ich stütze mich dabei auf Angaben der Monographie.)

1. Theilung ohne Ausscheidung einer Hülle.

a) ausgestreckt:

1. *E. spirogyra* Ehbг.
2. *E. acus* Ehbг.

b) eiförmig abgerundet:

3. *E. variabilis* Klebs.
4. *E. gracilis* Klebs.

2. Theilung innerhalb einer Haut- oder Schleimhülle.

a) ausgestreckt:

5. *E. deses* Ehbг. Lockere Schleimhülle.

b) kugelig bis eiförmig abgerundet. Eigentliche Theilungscyste.

6. *E. viridis* α Klebs. Haut- oder Schleimhülle; selten ohne Hülle.
7. *E. viridis* γ *hyalina* Klebs. Wie vorige, aber häufig ohne Hülle und im beweglichen Zustande.
8. *E. sanguinea* Ehbг. Dünne Schleimhülle.

9. *E. velata* a Klebs. Lockere Schleimhülle.
10. *E. granulata* Schmitz (= *E. velata* β *granulata* Klebs). Dicke Schleimhülle.
11. *E. pisciformis* Klebs. Sehr feste Hauthülle.

Der Typus derjenigen Euglenen, die sich durch Theilungscysten vermehren, ist *E. viridis* α (vielleicht noch richtiger die etwas weniger bekannte *E. pisciformis*); ihre Theilung erfolgt nur selten im beweglichen Zustande. Vergl. die Arbeiten von Klebs, Bütschli, Khawkinge.

Der letztgenannte Autor sucht auch die Gründe anzugeben, welche für die Theilung im encystirten bezw. im beweglichen Zustande ausschlaggebend sind. Es muss aber auch hier wieder betont werden, dass die Versuche nicht mit Reinkulturen ausgeführt wurden und dass auch die daraus abgeleiteten Schlüsse oft sehr speculativer Natur und nicht auf sichere Thatsachen gestützt sind.

Ich citire einige Stellen der Abhandlung.

„Le fait que les kystes pour la reproduction ne se trouvent point chez l'*Astasia* incolore, et que l'Euglène même ne les sécrète que dans les conditions d'une bonne assimilation de l'acide carbonique (clarté abondante, sels nutritifs, chromatophores sains), nous permet de supposer que la mucosité nécessaire pour ce genre de kystes est le résultat de l'activité de la chlorophylle, et se forme d'un des produits de l'assimilation de l'acide carbonique.“ p. 357.

„J'attribue la grande production de mucosités à l'action des rayons clairs du soleil et l'état mucilagineux de cette mucosité aux rayons sombres.“ p. 355¹⁾.

In stark faulenden Flüssigkeiten soll durch die Fäulnissgase („vapeurs ammoniacales et le sulfhydrate d'ammoniaque“) die Activität des Körpers sehr erhöht werden. Darum theile sich die *E. viridis* (speciell β *olivacea*) in organischen Flüssigkeiten während der ersten Zeit im beweglichen Zustand. (l. c., p. 348 u. 349.)

Was die andere Klasse von Cysten, die Dauercysten anbetrifft, so würden dieselben bei *E. viridis* ganz wie bei der *Astasia ocellata* unter ungünstigen Lebensbedingungen abgeschieden. Die nöthige Schleimsecretion soll in diesem Falle auf chemischen Processen beruhen, die sich im chromatophorenfreien Protoplasma abspielen. l. c., p. 357.

1) Dass die Schleimabsonderung im Dunkeln und am Licht durch höhere Temperatur befördert, aber nicht bedingt wird, fand ich bei *E. gracilis* bestätigt.

Die Zelltheilung von *E. gracilis*.

Die Fähigkeit der Schleimabsonderung kommt dieser Euglenen-species nur in relativ geringem Grade zu. Die Theilung findet meist im beweglichen Zustand, selten innerhalb einer Hülle statt.

„Die Euglene rundet sich bei der Theilung zu eiförmiger Gestalt ab, ohne besondere Schleimhüllen auszuschcheiden, doch ist sie dessen fähig, wie sich bei Torfkulturen zeigt.“ Monographie, p. 303.

1. Die Theilung im beweglichen Zustand verläuft in der folgenden Weise. Die zur Theilung sich anschickende Euglene ist meist von relativ bedeutender Körpergrösse; ihre Bewegungen werden langsamer, sie sinkt auf den Boden des Kulturglases oder kriecht in Bakterienkahnhäute u. dergl. hinein. Hier wirft sie die Cilie ab und contrahirt sich eiförmig. Nun vollzieht sich die Theilung der inneren Organe, bei der Form α oft auch eine Verdoppelung der Chromatophorenzahl. Währenddessen verharret die Euglene in Ruhe und führt nur ab und zu langsame metabolische Bewegungen aus. Sehr bald beginnt die Einschnürung der Membran, die Bewegung wird wieder lebhafter, die Cilien der Tochterzellen beginnen langsam hervorzusplassen und unter den mannigfaltigsten Zerrungen und Torsionen vollzieht sich, von vorn nach hinten fortschreitend, die allmähliche Trennung der beiden Sprösslinge. Irgend welche Schleimhüllenbildung konnte nicht bemerkt werden.

In dieser und nur in dieser Form, also im stricten Gegensatz zu *E. viridis*, theilt sich die *E. gracilis*, wenn sie in Flüssigkeiten kultivirt wird.

2. Anders, und in vielen Beziehungen interessanter, gestalten sich die Verhältnisse, wenn man die Euglene auf festen Substraten z. B. auf Gelatine züchtet. Natürlich müssen hierbei die (gelatineverflüssigenden) Bakterien ausgeschlossen werden. Die Vegetation ist zwar bei Weitem nicht so lebhaft wie in flüssigen Medien, immerhin ziemlich ausgiebig, wenn man noch Nährstoffe wie Pepton oder Pflaumensaft zufügt.

Aus zahlreichen und in verschiedener Weise variirten Versuchen ergab sich das Resultat, dass nur dann die ganze Theilung in Ruhe, innerhalb einer dünnen Schleimhülle, vollzogen wird, wenn das Substrat genügend consistent ist. Sowie die Unterlage ein Umherkriechen oder gar

eine Schwimmbewegung gestattet, theilt sich die Euglene im beweglichen Zustand.

Durch fortgesetzte Zweitheilung in Ruhe entstehen nun auf und in der Gelatine mannigfach geformte, meist kugelige Häufchen von Euglenen (Fig. 9, Taf. VI). Dieselben sind (im reflectirten Licht) weiss gefärbt bei der Kultur im Dunkeln, hellgrün bis dunkelgrün bei Lichtkulturen und wachsen allmählich bis zu 1—2 mm im Durchmesser an. Alle Euglenen eines Häufchens sind annähernd gleich gross, ihre Schleimhüllen verschmelzen zu einer einzigen sehr weichen und dünnen Masse, in welcher die Individuen eingebettet sind. Sehr wahrscheinlich werden wie bei *E. viridis* bei jeder Theilung neue, d. h. secundäre, tertiäre etc. Specialhüllen ausgeschieden; doch war dies bei der schwachen Schleimsecretion nicht sicher zu entscheiden. Die einzelnen Euglenenansammlungen lassen sich als zusammenhängende Häutchen von der Gelatine abheben. Ueberträgt man sie in Wasser, so lösen sie sich schnell auf, die Organismen bilden ihre Cilien aus und schwimmen davon.

Bei der Beurtheilung von Lichtkulturen muss der Phototaxis der Euglenen Rechnung getragen werden.

Von einigen Versuchen will ich in Kürze das Resultat angeben.

Auf (4%) Agar-Agar ohne Nahrungszusatz.

Kaum Vermehrung; nach kurzer Zeit entstehen dickwandige Dauercysten (oft mit nachträglicher Zweitheilung).

Pepton-Agar am Licht.

Theilung fast immer im beweglichen Zustand. Bizarre Metaboliebewegungen.

Gelatine (mit Pepton).

1. 5% Gelatine im Dunkeln: Theilung meist in Ruhe. Kugelige oder unregelmässige Euglenenhäufchen.

2. 5% Gelatine am Licht: Die Euglenen kriechen frei auf der Gelatine; nie Theilungscysten. Die beim Impfstich in die Gelatine gelangten Euglenen bewegen sich meist nicht weiter; jede (ein kleines „Schöpfungscentrum“) bildet mit ihren Nachkommen ein dunkelgrünes Kügelchen, dessen Grösse allmählich zunimmt. Mit steigender Lichtintensität lockern sich die Häufchen; die Euglenen nehmen eine langgestreckte unregelmässige Form an und kriechen in der Richtung der einfallenden Lichtstrahlen durch die Gelatine hindurch.

3. Auf und in 20% Gelatine, am Licht und im Dunkeln.

Nie freikriechende Euglenen. Stets Häufchen von Theilungscysten. Die Euglenen werden also stärker von der Zähigkeit der Unterlage als von der Empfindlichkeit gegen das Licht beeinflusst.

Die Theilung geschieht also:

1. im beweglichen Zustand: In Flüssigkeiten und auf 5% Gelatine oder ähnlichen weichen Substraten am Licht.
2. in Ruhe: Meist auf 5% Gelatine im Dunkeln; in 5% Gelatine am Licht. Stets auf und in 20% Gelatine.

Die früher (p. 166) angegebenen Theorien Khawkin's über den Zusammenhang der beiden Theilungsmodi haben somit für den Fall der *E. gracilis* keinen Werth. Die Art der Theilung ist nur abhängig von der physikalischen, nicht der chemischen Beschaffenheit des Wohnorts; unabhängig von der Ausbildung der Chromatophoren m. a. W. von der Art der Ernährung.

Scheinbare Ausnahmen werden durch eine bekannte, aber noch nicht aufgeklärte Eigenthümlichkeit der *E. gracilis* veranlasst. Es ist charakteristisch für diese Species, dass sie mit grosser Vorliebe in zufällig vorhandene Pilzmycelien, Bakterienkahnkhäute u. s. w. hineinkriecht. So kommen oft in bakterienhaltigen Kulturen grüne Euglenendecken zu Stande. Dieselben unterscheiden sich aber bei näherer Prüfung sofort von ähnlich aussehenden der *E. viridis* dadurch, dass sie nur aus freien Euglenen, nie aus Theilungscysten, wohl aber bei einem gewissen Alter der Kultur aus dickwandigen Dauercysten bestehen.

Im Anschluss an diesen Abschnitt über die Theilungsvorgänge ist ein interessanter Fall abnormer Zelltheilung zu erwähnen. Es handelt sich um eine, leider nur einmal und unvollständig beobachtete simultane Dreitheilung im beweglichen Zustande. Es waren drei wohlausgebildete, mit Cilie und Stigma versehene Euglenen, die am hinteren Körperende miteinander verwachsen waren (Fig. 10, Taf. VI). Eine solche Abnormität ist bis jetzt von keiner andern Flagellate beschrieben worden. Im Gegentheil sagt Bütschli (87, p. 745): „Es erscheint in hohem Maasse zweifelhaft, ob sich im nicht encystirten Zustande gelegentlich auch eine simultane Theilung in eine grössere Zahl von Sprösslingen finde.“ Zweifellos war die beobachtete Monstrosität eine unvollendete Längstheilung („Drillingsbildung“) und entspricht den Zwillings-

bildungen, wie sie schon oft in den Gattungen *Polytoma* und *Chlamydomonas* gesehen worden sind.

Im Anschluss an diese Besprechung der Abhängigkeit des Theilungsmodus von dem Nährmedium sei nun noch hingewiesen auf den Einfluss der Beleuchtung und der Temperatur.

1. Das Licht spielt keine so entscheidende Rolle im Leben der Euglene wie man a priori von einem chlorophyllhaltigen Organismus erwarten dürfte. Es hängt dies innig zusammen mit ihrer Befähigung zur Heterotrophie.

Die relativ geringe Abhängigkeit von der Beleuchtung kommt auch darin zum Ausdruck, dass die Zeit der Theilung nicht mit einer bestimmten Tageszeit correspondirt, wie dies von vielen grünen Algen, auch von *Ceratium* u. s. w. bekannt ist. Die Theilung der Form α erfolgt zwar — soweit beobachtet — vorzugsweise in den Vormittagsstunden (zwischen 9 und 12 Uhr); doch kann man auch zu jeder anderen Tageszeit Theilungszustände der grünen und sehr leicht solche der farblosen Form antreffen.

2. Sehr interessante und bei niederen Organismen bis jetzt noch nie genauer untersuchte Verhältnisse bietet der Zusammenhang zwischen Temperatur und Wachstumsgeschwindigkeit. Ich stellte in dieser Richtung mit *E. gracilis* eine Anzahl Versuche an; da sie aber noch zu wenig zahlreich sind, um mit Bestimmtheit allgemeine Schlüsse zu gestatten und ich die Frage aus Mangel an Zeit nicht weiter verfolgen konnte, will ich sie nicht näher beschreiben, sondern nur kurz, ohne Détails, die Methode angeben, welche ich anwandte.

Von einer grösseren Anzahl gleichzeitig angelegter Kulturen wurde ein Theil in ein ungeheiztes Zimmer (mittlere Temperatur 16° C.), ein anderer in einen Thermostaten von 24° C., ein weiterer in einen solchen von 30° C. gestellt und dann in gewissen Intervallen die einzelnen Kulturen miteinander verglichen, indem mittelst eines Blutkörperchenzählapparates die Anzahl der durch Vermehrung der Stammexemplare im cmm Flüssigkeit entstandenen Euglenen bestimmt wurde.

Die äusseren Bedingungen (excl. Temperatur) wurden möglichst gleich gestaltet: zu allen Kulturen wurde ein und dieselbe (und zwar bakterienfreie!) organische Nährlösung von genau bekannter chemischer Zusammensetzung und Quantität benutzt; alle Gläser waren von derselben Form und Grösse und wurden mit einer

möglichst gleich grossen Zahl Euglenen geimpft; sämtliche Nährlösungen wurden verdunkelt, um etwaige Unterschiede in der CO_2 -Assimilation zu eliminieren u. s. w.

Die wenigen in der Weise ausgeführten Experimente zeigten deutlich, dass die Vermehrungsgeschwindigkeit der *E. gracilis* in ausserordentlich hohem Grade von der Temperatur abhängt. Man fand z. B. in einer bei 24°C . gehaltenen Kultur nach Ablauf von ca. 8 Tagen über 500 mal soviel Individuen (2650 Stück) per cmm als in einer entsprechenden Kultur, die bei 16°C . gestanden hatte.

Ferner erwies sich auch das Quantum der Nährlösung als von grossem Einfluss; doch kann ich an dieser Stelle nicht weiter darauf eingehen, verzichte auch auf einige Erörterungen theoretischer Natur.

Die drei Cardinalpunkte der Temperatur (Minimum, Optimum, Maximum) wurden nicht bestimmt; eine genaue Feststellung ist überhaupt nicht möglich wegen der allmählich platzgreifenden chemischen Veränderung der Nährlösung.

C. Die Dauercysten.

Die Dauercysten der *E. gracilis* sind von kugelig oder ellipsoidischer Gestalt. Der mit grossen Paramylonkörnern dicht erfüllte Weichkörper der Euglene liegt kugelförmig contrahirt innerhalb einer zwei- bis dreischichtigen Membran. Dieselbe wird ursprünglich als weicher Schleimmantel, bei mehrschichtigen Cysten unter verschiedenen Perioden, vom Plasma durch die Zellhaut hindurch secernirt und erhärtet allmählich zu einer festen schützenden Hülle, deren Contouren mit zunehmendem Alter schärfer hervor treten.

Durchmesser	{ des protoplasm. Inhalts . . .	17—20 μ
	{ der äussern Begrenzung der Cyste	23—27 μ
Dicke der Membran ca.		3 μ

In grösseren Cysten, also in Ruhe, findet häufig noch eine nachträgliche Zweitheilung, sehr selten Viertheilung des Inhalts statt; dabei werden nach jeder, ersten bzw. zweiten, Theilung neue Schleimhüllen ausgeschieden. Die letztgebildete dieser Hüllen ist jeweilen die dickste und stellt die eigentliche Wand der Cyste dar. Die Sprösslinge werden aus diesen Pseudotheilungscysten nicht frei nach ihrer Entstehung und ihre starke Membran lässt sie stets

leicht von gewöhnlichen Theilungszuständen unterscheiden (Fig. 5, Taf. VI).

Die wichtigste Bedingung für die Encystirung ist der Mangel an Nahrung. Langsames Eintrocknen der Nährlösung, ev. auch ihre chemische Veränderung durch Pilze und Bakterien kommen erst in zweiter Linie, Temperaturerhöhung, an sich, überhaupt nicht in Betracht. Aber selbst der Nahrungsmangel muss bei diesen zählebigen Organismen schon eine beträchtliche Intensität erreichen. In einer Erbsenwasserkultur (2 Erbsen auf 100 ccm Wasser) fanden sich nach 7 $\frac{1}{2}$ Monaten neben zahllosen Ruhezuständen noch viele, allerdings etwas kümmerlich aussehende, freischwimmende Euglenen vor. Bei der Kultur im Thermostaten (24° C.) ist mit der intensiven Vermehrung auch ein starker Nahrungsverbrauch verknüpft; die Cystenbildung beginnt daher im Allgemeinen früher als bei gewöhnlicher Temperatur; indessen kann ich hierüber keine vergleichenden Beobachtungen mittheilen.

In der Regel geht die Mehrzahl der Euglenen ungefähr gleichzeitig in den Cystenzustand über. Die ursprünglich lebhaft grüne Farbe der Form α verblasst auffallend stark und macht einem schmutzigen bräunlichen Grün Platz. Die Grösse der Chromatophoren wird reducirt und rothgefärbte Degenerationsproducte des Chlorophylls, Fetttropfen (?), grosse Paramylonkörner u. s. w. erfüllen die Zelle. Eine Färbung der Cystenhaut, wie sie Khawkinge (86, p. 357/58) von *E. viridis* beschreibt, wurde bei *E. gracilis* nie beobachtet.

Khawkinge bemerkt von den Euglenen sehr zutreffend. „Il possèdent au plus haut degré le don de supporter l'épuisement.“ Darum gelingt es nicht leicht durch künstliche Mittel, z. B. durch Nahrungsmangel Euglenen, die in kräftiger Entwicklung begriffen sind, in den Dauerzustand überzuführen. Die hierzu erforderliche Zeitdauer nimmt mit zunehmendem Alter der Kultur ab, ist aber immer sehr beträchtlich. Z. B. wurden möglichst viele Euglenen aus einer älteren Kultur in eine Uherschale gebracht und in feuchter Kammer an das Licht gestellt: sie encystirten sich erst nach drei Wochen.

Die Keimung der Ruhezustände ist in manchen Beziehungen beachtenswerth. Sie vollzieht sich in der Weise, dass die Cystenhaut unter Wasseraufnahme verschleimt, während die eingeschlossene Euglene zu neuem Leben erwacht, sich zu bewegen anfängt, aus der kugelligen in die langgestreckte Form übergeht, zu-

letzt die Hülle sprengt und nach Ausbildung ihrer Cilie in das umgebende Wasser ausschwärmt.

Gewöhnlich findet vor dem Austritt aus der Cyste noch eine Theilung in zwei, höchstens in vier Sprösslinge statt. Die Theilproducte bewegen sich im Innern der mütterlichen Membran nach jeder Richtung ungehindert, bis sie endlich frei werden. Eine solche Dauercyste mit Viertheilung des Inhalts (Fig. 6, Taf. VI) unterscheidet sich somit wesentlich von ähnlich aussehenden Theilungscysten der *E. viridis*. Bei *E. gracilis* folgt auf die erste Zweitheilung direct die zweite; dazwischen liegt keine Periode des Heranwachsens, und secundäre Hüllen werden nicht ausgeschieden.

Der Keimung der Ruhezellen von *Astasia ocellata* geht keine Theilung des Inhaltes voraus; jede Cyste entlässt immer nur einziges Individuum (Khawkine 85, p. 48).

Das Freiwerden aus den Cysten geschieht, wenn sich die Umgebung so verändert, dass wiederum günstige Bedingungen für die Ernährungs- und Fortflanzungsthätigkeit der Euglenen geschaffen sind. Darum kann man die Dauerzustände der grünen und der farblosen Form der *E. gracilis*, ohne sie vorher zu trocknen, jederzeit durch Zufuhr organischer Nahrung zur Keimung bewegen. Sehr schnell, oft schon nach 16 Stunden verlassen die Euglenen ihre Hüllen, wenn sie mit Erbsenwasser begossen werden; geeignet sind zu demselben Zweck Heudecoct, Pepton-, Fleisch-extract-, Traubenzucker-, Maltoselösungen u. s. w.

Beim Uebertragen in frisches (kalkhaltiges) Brunnenwasser keimen die Cysten der *E. gracilis* nicht; im Gegensatz zu den Cysten vieler anderer Flagellaten. Cfr. Fisch (85).

Besondere Fälle:

1. Die Dauercysten der Form α keimen am Licht auch in Lösungen unorganischer Salze z. B. in 0,4 % Knop'scher Nährlösung. Der Vorgang kann durch Temperaturerhöhung etwas beschleunigt werden, braucht aber auch dann mehr Zeit (etwa 6 Tage) als in organischen Flüssigkeiten (ca. 1 Tag). In Knop'scher Nährlösung im Dunkeln, selbst bei Combination mit erhöhter Temperatur findet die Keimung nicht statt.

2. Die Dauerzustände der Form γ (in einer alten Erbsenwasserkultur) keimten ohne Zufuhr von frischer Nahrung, als sie dem Lichte oder bei Lichtabschluss höherer Temperatur ausgesetzt wurden. Im ersten Falle lösten die Euglenen ihr

Paramylon auf und verliessen nach 72 Stunden ihre Hüllen, bildeten Chloroplasten aus und fingen an, sich lebhaft zu vermehren, offenbar auf Kosten der Kohlensäure und der übrig gebliebenen Salze.

Mit getrockneten Cysten wurden nur wenige Versuche angestellt. Sie hatten einen negativen Erfolg. Es scheint, dass die encystirte *E. gracilis* keine lange Trockenheit ertragen kann. Nach Klebs (83, p. 283) keimen die getrockneten Euglenencysten, wenn sie mit blossem Wasser befeuchtet werden. Bei *E. viridis* β *olivacea* werden aber „die eingekapselten Individuen schneller frei, wenn man sie mit Mistdecoct übergiesst, ein Zeichen, dass diese Form an solche Nährflüssigkeit in gewisser Weise gebunden ist.“

III. Die Ernährung.

A. Das Verhalten gegen freie Säure.

Das Verhalten der Algen in Säurelösungen ist von Migula (88) für einige Fälle untersucht worden¹⁾. Dabei stellte sich heraus, dass die meisten grünen Algen gegen Säure ausserordentlich empfindlich sind. Speciell *Spirogyra orbicularis* wird getödtet, wenn von freier Säure eine grössere Menge als 0,05 % im Wasser enthalten ist²⁾.

E. gracilis verhält sich ganz anders; sie erträgt, verglichen mit den genannten Organismen, ausserordentlich viel freie Säure.

Es wurden hauptsächlich organische Säuren und zwar Citronensäure, Aepfelsäure, Weinsäure und Oxalsäure benützt; die farblose und die grüne Form der *E. gracilis* verhalten sich, wie es scheint, genau gleich in Bezug auf die zulässige Concentration.

Ich begnüge mich damit, die obere Grenze, welche der Säuregehalt erreichen darf, bevor der Tod eintritt, angenähert festzustellen; die specifischen Einwirkungen der Säure auf die Lebenserscheinungen wurden nicht im Einzelnen geprüft.

Orientirungsversuche: Es wurde jeweilen ein kleines Volumen euglenenreicher gewöhnlicher Kulturflüssigkeit mit einer gleichen Quantität einer 0,5—20 % Lösung der organischen Säure gemischt, so dass sich nachher die Organismen in einer halb so

1) Cfr. auch Molisch (96).

2) Ungefähr dieselbe, vielleicht noch etwas grössere Empfindlichkeit zeigt, wie ich aus einigen Versuchen schliessen darf, *Polytoma uvella* Ehbgr.

concentrirten (0,25—10 %) Säurelösung befanden. Dabei zeigten sich regelmässig folgende Erscheinungen.

Kurz nach dem Uebertragen in die Säure sinken die Euglenen langsam auf den Boden des Versuchsgläschens, denselben mit einer Kruste überziehend. Ihre Schwimmbewegung wird sistirt, die Geissel abgeworfen und viele Individuen sterben schneller oder langsamer ab. War aber die Säure nicht zu stark, so erholen sich manche der scheinotdten Euglenen wieder, bilden ihre Cilien von neuem aus und vertheilen sich gleichmässig in der ganzen ihnen zu Gebote stehenden Flüssigkeit. Die grüne Farbe der abgestorbenen wird durch die Säure bald zerstört und geht durch Gelb- und Braungrün in Weiss über; die Farbe der überlebenden wird nicht beeinflusst. Häufig kann man beobachten, dass die Euglenen das vor dem Versuch meist vorhanden gewesene Reserveparamylon aufzehren und dann bei schwacher Vergrösserung durchsichtiger grün erscheinen. Die Organismen werden offenbar in ihrer gewohnten Assimilation momentan gestört und verzehren darum zunächst ihren Vorrath an Reservestoff; später, wenn sie sich an die neue Umgebung gewöhnt haben, füllen sie sich wiederum damit. Die Paramylonkörner der abgestorbenen Exemplare werden durch die Säure nicht verändert.

Was die einzelnen Säuren angeht, so schadet

1. die Citronensäure am wenigsten.

0,5—2 % sind unschädlich, sogar Nahrungsmittel; in 3 und 4 % waren nach 88 Stunden noch viele Euglenen am Leben; in 4 und 5 % nach 5 Tagen manche in freier Bewegung; in 5 und 6 % selbst nach 17 Tagen einige noch nicht abgestorben.

Interessant ist die Art und Weise, wie die Euglenen durch starke (10—20 %) Citronensäure getödtet werden. Der Körper zieht sich zusammen, wird schmaler und länger, dabei unbeweglich; Die Begrenzungslinien der Hauptvacuole und des Membrantrichters treten scharf hervor. Die Farbe erscheint in Folge der dichter gewordenen Lagerung der Chloroplasten dunkler grün. Nun wird die Cilie abgeworfen und verquillt sehr rasch; die Hauptvacuole sinkt zusammen und verschwindet ebenfalls und die Zelle ist todt. Gleich darauf erfolgt eine bedeutende Streckung und Verbreiterung der abgestorbenen Euglene. Schliesslich zerfällt auch das Stigma und die grüne Farbe der Chromatophoren wird durch die Säure zerstört. — Ein Individuum zeigte in den einzelnen eben beschriebenen Phasen die folgenden Dimensionen.

	Länge	Breite
1. Lebend	48,5 μ	6,0 μ
2. Starr, kontrahirt	57,8 μ	4,6 μ
3. Nach dem Tode	67,0 μ	5,7 μ

Auf eine Erklärung dieser Erscheinungen verzichte ich; sie sind wahrscheinlich rein physikalischer Natur.

2. Weinsäure.

Resultat der Versuche.

Procentgehalt an freier Säure	0,5 %	1 %	2 %	4 %	6 %	10 %
Nach 2 und nach 4 Stunden	alle Euglenen auf den Boden des Glases gesunken; denselben in einer grünen Schicht bedeckend					alle E. totd; brauner Bodensatz
Nach 24 Stunden	wenige totd; meist nor- mal und in freier Schwimm- bewegung	ca. $\frac{2}{3}$ frei- schwim- mend; $\frac{1}{3}$ totd, geplatzt	ca. die Hälfte totd; die andere normal u. manche E. frei- schwim- mend	die Mehrzahl totd; meist nicht geplatzt, weil sehr schnell abgestorben	Bodensatz weisslich geworden	
Nach 48, 94 Std. u. nach 14 Tagen	ebenso	ebenso	ebenso; nur im Bodensatz freie Euglenen	ebenso; kaum noch eine Euglene am Leben	—	

3. Aepfelsäure.

Die Euglenen verhalten sich dieser Säure gegenüber ähnlich wie gegen die Weinsäure. Nach 42 Stunden in 0,5—1 % alle, oder wenigstens die Mehrzahl der Euglenen unverändert, in 2 % nur noch wenige, in 4 % keine mehr am Leben.

4. Oxalsäure ($C_2H_2O_4 + 2H_2O$).

Sie wirkt, wie nicht anders zu erwarten war, verhältnissmässig sehr giftig. In 1- und mehrprocentiger Lösung geht *E. gracilis* nach wenigen Minuten zu Grunde und verfärbt sich bräunlich. Nach 48 Stunden waren in 1proc. Lösung keine, in 0,5 und 0,25 proc. nur noch wenige Individuen am Leben; in der 0,25proc. Lösung

sahen die lebend gebliebenen nach 72 Stunden wieder ganz normal aus.

Zur Controle der im Miniaturmaasstab, aber für unsre Zwecke genügend exact, ausgeführten Orientierungsversuche, wurden auch grössere Kulturen der *E. gracilis* in organischen Nährlösungen mit einem bestimmten Säuregehalt angelegt. Etwaige Bindung eines Theils der Säure durch die vorhandenen Nährsalze kommt nicht in Betracht.

Die Resultate stimmten mit den vorigen überein. Die Euglenen vermehrten sich ohne Nachtheil, wenn die Nährlösung (Erbsenwasser) 1—2 % Citronensäure, weniger gut, wenn sie 0,5—1 % Weinsäure, nur schlecht, wenn sie 0,2 % Oxalsäure enthielt. Sie wuchsen sogar noch ziemlich kräftig in einer mit Pepton versetzten 4proc. Citronensäurelösung und wahrscheinlich liessen sie sich an noch höhere Concentrationen gewöhnen.

Gegen unorganische Säuren ist die *E. gracilis* wohl viel empfindlicher als gegen die genannten organischen. Ich stellte aber in dieser Richtung keine genauen Versuche an:

Einem grössern Volumen (50 ccm) guter organischer Nährlösung wurden je einige Tropfen der conc. Mineralsäure zugesetzt und nach dem Sterilisiren mit *E. gracilis* aus einer neutral reagirenden Kultur geimpft. Es zeigte sich, dass die Entwicklung sehr erschwert wird durch 1—2 Tropfen conc. Schwefelsäure, 2 Tropfen conc. Salzsäure, 6 Tropfen conc. Phosphorsäure. Vergl. auch Migula, l. c., p. 14.

Unterschiede zwischen bakterienfreien (weil säurehaltigen) und gewöhnlichen Kulturen.

Man kann ziemlich deutlich bemerken, dass die Vermehrung der *E. gracilis* in bakterienfreien organischen Flüssigkeiten erheblich kräftiger ist als cet. par. verbunden mit starker Bakterienvegetation. In manchen Fällen ist zwar eine mässige Bakterienthätigkeit entschieden vortheilhaft¹⁾.

Der Ausschluss der Bakterien wirkt selbstverständlich aus zwei Gründen günstig:

1. Die Stoffwechselproducte gewisser Bakterien-species (es scheint besonders von einigen schleimbildenden zu gelten) sind direct schädlich für die Euglene.

1) Aehnliches beobachtete schon Beyerinck (90).

2. Wenn zu viel Spaltpilze anwesend sind, so verbrauchen dieselben einen grossen Theil der Nährstoffe für sich, welcher sonst der Euglene zu gute kommen würde.

Die Ausbildung des Paramylons beginnt in den unreinen Kulturen durchschnittlich früher als in den bakterienfreien.

B. Die Art und Weise der Ernährung.

In *Euglena gracilis* haben wir einen Organismus vor uns, der sich je nach den Lebensbedingungen autotroph oder heterotroph ernähren kann. Es ist hier nicht der Ort, im Einzelnen die biologischen Verhältnisse, welche die Gruppe der Eugleniden aufweist, zu schildern¹⁾. Es können nur einige Punkte, welche für die Beurtheilung der *E. gracilis* von Werth sind, zur Sprache kommen. Bis jetzt ist diese Species nur wenig beachtet und daher nichts Näheres von ihr bekannt geworden. In der freien Natur erscheint sie wohl fast immer in der bekannten zart grünen Form, die Klebs zuerst beschrieben hat. Bei den Kulturversuchen im Laboratorium stellte sich aber bald heraus, dass die äussere Erscheinung ausserordentlich wechseln kann, indem sich die Euglene in hohem Grade den verschiedenartigsten Existenzbedingungen anzupassen vermag. Wenn sie bei Lichtabschluss in organischen Flüssigkeiten gezüchtet wird, so verliert sich die grüne Färbung vollkommen; nach kurzem Aufenthalt im Dunkeln stimmt der Habitus in allen Beziehungen mit demjenigen einer *Astasia* überein. Am Licht verwandelt sie sich wiederum in die typische grüne Form. In sehr reicher organischer Nährlösung können auch am Licht vorübergehend farblose Exemplare entstehen; die grosse Quantität geeigneter assimilirbarer Substanzen macht offenbar in diesem Fall die Ausbildung der Chloroplasten überflüssig, deshalb treten sie erst bei allmählichem Verbrauch der Nahrungstoffe in Function. In der freien Natur werden sich diese (rein äusserlichen) Bedingungen nur selten in so extremer Weise geltend machen und die Erscheinung der *E. gracilis* erheblich verändern. Nur ausnahmsweise wird es sich ereignen, dass an dem Wohnort für längere Zeit völlige Dunkelheit eintritt, oder, dass andererseits so reiche Nahrung zur Verfügung gestellt wird, dass die Ausbildung der Chloro-

1) Jede Species hat ihre besonderen Eigenthümlichkeiten; Klebs (83, p. 287 ff.) giebt davon eine zusammenfassende Darstellung.

plasten unterbleibt; dies ist der Grund, warum die farblose Form noch nie im Freien gesehen worden ist, während sie künstlich leicht erzeugt werden kann.

Das Folgende soll zunächst in Kürze die verschiedenen Ernährungsweisen, die für die *E. gracilis* in Betracht kommen, in allgemeinen Zügen schildern. Daran schliesst sich eine ausführlichere Besprechung des Ergrünens der farblosen Form und der Entstehung ungefärbter Astasia-ähnlicher Organismen aus grünen (I). Unter II sollen dann specielle Angaben über die benützten Nährlösungen folgen als Belege zu den Ausführungen sub I.

I. Allgemeines.

a) Uebersicht über die verschiedenen Ernährungsweisen.

1. Die autotrophe Ernährung.

In unorganischen Salzlösungen am Licht ernährt sich die *E. gracilis* mit Hilfe ihrer Chromatophoren. Sie assimiliert die Kohlensäure wie irgend eine grüne Pflanze unter den Bedingungen der Wasserkultur. Es wurde hauptsächlich die Knop'sche Nährlösung in Concentrationen von 0,05 bis 0,8 % angewandt, wie sie von Klebs mit Erfolg für verschiedene Euglenen benützt worden ist. Daneben kamen auch einige andere Lösungen in Betracht. Die Versuche zeigten übereinstimmend, dass sich die Euglene in Nährsalzlösungen nur langsam vermehrt. Das Wachsthum wird durch höhere Temperatur bedeutend gesteigert, darf aber auch dann noch, verglichen mit demjenigen in guten organischen Nährflüssigkeiten, als ein kümmerliches bezeichnet werden; die rein autotrophe Lebensweise tritt offenbar nur im Nothfalle in ihr Recht.

2. Die heterotrophe (saprophytische) Ernährung.

In geeigneten organischen Nährlösungen wächst *E. gracilis* während einer unbeschränkten Zeitdauer bei völligem Lichtmangel. Die Encystirung kann jederzeit durch Zufügen frischer Nährstoffe aufgehalten werden. Es ist damit erwiesen, dass eine ursprünglich grüne Euglene genau wie eine Astasia durch Verarbeitung vorgebildeter organischer Substanz leben und sich vermehren kann. Zur Herstellung der Nährlösung lassen sich sehr verschiedene Stoff-

gruppen der organischen Körper verwenden; immerhin müssen in erster Linie organische Stickstoffverbindungen berücksichtigt werden.

Interessant und ein neuer Beweis für die schon oft constatirte Genügsamkeit und Zählebigkeit der Euglenen ist die Thatsache, dass sich *E. gracilis* in Lösungen der reinsten käuflichen Citronensäure und der „chem. reinen“ Zuckerarten während einiger Zeit ziemlich stark vermehrt. Dies wäre allerdings unmöglich, wenn nicht stets kleine Mengen von Stickstoffverbindungen und unorganischen Salzen die genannten Substanzen verunreinigen würden. Das Wachsthum wird in der That gleich ausserordentlich gefördert durch Zugabe einer Spur Pepton und ist sehr lebhaft in reinen Peptonlösungen. Ueber das Verhalten der Chromatophoren im Dunkeln ist bereits das Nöthige gesagt worden. Vergl. p. 155 und 163.

NB. In dunkelgestellter Knop'scher Nährlösung vermehrt sich die *E. gracilis* nicht weiter, bleibt aber wochenlang am Leben und behält ihre grüne Farbe bei; allerdings treten bei den meisten Individuen im Plasma rothe Degenerationsproducte des Chlorophylls auf. Dasselbe Verhalten ist schon für andere Species durch Klebs (83) und Khawkinge (86, p. 328) festgestellt worden.

3. Die mixotrophe Ernährung.

Am üppigsten gedeiht *E. gracilis* bei einer mixotropen Lebensweise. In organischen Nährlösungen am Licht ist die Vermehrung eine ausserordentlich kräftige und die ganze Zelle durch grosse Chloroplasten entweder wunderschön satt- oder auch etwas gelblichgrün gefärbt.

Bei dieser Lebensweise wird wahrscheinlich der grössere Theil der nothwendigen Kohlenstoffverbindungen direct der Umgebung entnommen und nur der kleinere Theil durch die Thätigkeit der Chromatophoren gebildet. Es ist auch nicht ausgeschlossen, dass das Licht nicht nur aus dem Grunde ausserordentlich fördernd auf die Vermehrung einwirkt, weil es die CO_2 -Assimilation ermöglicht, sondern, dass es in noch anderweitiger bis jetzt unbekannter Weise in die unendlich verwickelten Stoffwechselprocesse beschleunigend eingreift.

b) Die Umwandlung der farblosen *Astasia*- in die grüne *Euglena*-Form und umgekehrt.

Es erübrigen noch einige genauere Angaben über die Schnelligkeit des Ergrünens bezw. Verblässens und die Abhängigkeit vom Nährsubstrat.

1. Die Ergrünung der farblosen Form.

Schon in der ersten Zeit, als ich mich mit *E. gracilis* beschäftigte, fiel mir wiederholt auf, dass sich Kulturen der Form γ (die ich damals noch für eine besondere Euglenenspecies hielt) am Licht schön grün färbten, indem sich die farblosen Euglenen in kurzer Zeit durch Uebergänge der Form β in die typische Form α verwandelten.

Weil ein so merkwürdiges Verhalten noch von keiner Euglenenspecies¹⁾ bekannt war, so musste demselben grössere Beachtung geschenkt werden. Um den Einwand zu beseitigen, dass es sich bei den ersten Experimenten vielleicht um zwei verschiedene Organismen gehandelt habe, von denen je nach dem Aufenthalt im Dunkeln bezw. am Licht der eine oder der andere zur Alleinherrschaft gelangt sei, wurden die Versuche mit absolut reinen Kulturen wiederholt.

Sie ergaben wiederum das Resultat, dass die *E. gracilis* sowohl in einer grünen als in einer farblosen Form auftreten kann.

Zur Erläuterung will ich ein Experiment etwas ausführlicher beschreiben. In Erbsenwasser, das mit einigen Euglenen aus einer Reinkultur der Form α oder γ geimpft und ins Dunkle gestellt wird, entwickelt sich regelmässig in 2—3 Wochen eine reiche Euglenenvegetation, und zwar stets der farblosen Form. Wird nun eine solche Kultur, im übrigen unverändert, dem hellen Tageslicht ausgesetzt, so macht sich oft schon am anderen Tage, besonders wenn sich die Euglenen in Folge ihrer Phototaxis auf einen kleinen am hellsten beleuchteten Raum am Boden des Glases angesammelt haben, eine schwache aber deutliche Grünfärbung der Flüssigkeit bemerkbar. Die Organismen zeigen bei starker Vergrösserung einen grünen Schimmer über den Paramylonkörnern.

1) Die Arbeit von Krüger (Zopf's Beitr. z. Physiologie, IV, 1894) „Ueber einige aus Saftflüssen rein gezüchtete Algen“ kam mir leider erst nach Abschluss meiner Untersuchung zu, so dass ich sie nicht mehr gebührend berücksichtigen konnte. Krüger constatirte bei einigen niederen Algen (*Chlorella* u. s. w.) in Bezug auf ihren schwankenden Chlorophyllgehalt analoge Verhältnisse wie ich bei *E. gracilis*.

Die Grenzlinien der einzelnen Chloroplasten werden aber erst nach Anwendung von Tinctionsmethoden deutlich; doch schon nach wenigen Tagen sind die Chromatophoren so weit ausgebildet, dass man eine derartige, zuerst im Dunkeln gehaltene, Kultur in keiner Weise mehr von einer Lichtkultur der Form α unterscheiden kann.

Das Ergrünen findet auch noch bei hohem Alter der seit der Impfung verdunkelt gewesenen Kultur statt. In $7\frac{1}{2}$ und $11\frac{1}{2}$ Monate alten Erbsenwasserkulturen, worin sich die Euglenen schon längst aus Nahrungsmangel encystirt hatten, entwickelte sich am Licht binnen weniger Tage von neuem eine reiche Vegetation. Die Euglenen verliessen ihre Cysten und begannen sich sofort energisch zu vermehren. Der Reservestoff wurde aufgelöst und die Leukoplasten in grosse Chloroplasten verwandelt, welche die Kohlensäure assimilirten und unter Zuhilfenahme der noch übrig gebliebenen unorganischen Salze die zur Zellvermehrung nöthigen organischen Substanzen lieferten. Erst nach einigen weiteren Wochen trat, also zum zweiten Male in derselben Kultur und diesmal definitiv, der Cystenzustand ein.

Die beschriebenen Vorgänge gelten, mit wenigen, später zu erörternden Ausnahmen, nicht nur für Erbsenwasser, sondern für beliebige Kulturen der Form γ . Die zum Grünwerden erforderliche Zeitdauer beträgt durchschnittlich 8, für Erbsenwasser im Minimum 3 helle Tage.

Ueber die Entstehung der Pyrenoide (Paramylonkerne) kann ich leider nichts mittheilen. Höchst wahrscheinlich vermehren sie sich durch Zweitheilung und sind schon in den Leukoplasten angelegt; denn sehr frühzeitig kann man in den sich ausbildenden Chloroplasten ein farbloses Centrum, den Ort des später deutlich entwickelten Pyrenoids wahrnehmen¹⁾.

Ist auch der Lichtzutritt als erste und unerlässliche Bedingung für das Ergrünen zu bezeichnen, so ist doch die Ausbildung des Chlorophylls selbstverständlich noch an gewisse andere Bedingungen geknüpft. Aus vielen Beobachtungen und Versuchen geht mit grosser Wahrscheinlichkeit hervor, dass die volle Entwicklung der Chromatophoren von der Gegenwart genügender

1) Die Untersuchungen über das Entstehen der Chloroplasten geschehen am einfachsten, bequem und schnell dadurch, dass man die Euglenen mit Jodjodkalium fixirt und dann in 10 % Kalilauge das die Beobachtung erschwerende Paramylon auflöst. Die Quellung ist bei vorausgegangener Fixirung nicht zu stark und hat zugleich den Vortheil, dass die Chromatophoren leichter sichtbar werden.

Mengen unorganischer Salze und zwar hauptsächlich N-Verbindungen abhängig ist.

Die interessante Frage lässt sich bei dem derzeitigen Stande der Kulturmethoden allerdings nicht sicher beantworten, und complicirt sich dadurch, dass es kaum gelingt, Bedingungen für das Ergrünen ohne gleichzeitige lebhaftere Vermehrung herzustellen. Es mögen daher folgende Andeutungen genügen.

Bei allzu grossem Mangel an Salzen ist das Wachsthum überhaupt gehemmt, z. B. in reinen Zuckerlösungen und in verdünntem käuflichen Himbeersaft. Die Euglenen vermehren sich nur während einiger Zeit ziemlich kräftig; dann füllt sich der Körper mit viel Paramylon (? Analogie zur Stärkekrankheit der Phanerogamen), Excretkörnchen u. s. w. und stirbt langsam ab.

Ganz anders gestaltet sich die Sache, wenn dem Himbeersaft Salze, und zwar spec. Ammoniumverbindungen zugesetzt werden. Dann geht die Vermehrung in der lebhaftesten Weise vor sich und ist ebenso kräftig wie in den besten Nährlösungen.

Zur näheren Erläuterung will ich eine instructive Versuchsreihe beschreiben.

Eine Anzahl Doppelschalen wurden zweimal je zwei Stunden in dest. Wasser ausgekocht, um die an den Glaswänden eventuell trotz des Reinigens haften gebliebenen Stoffe aufzulösen, dann mit ein und derselben gut gemischten sterilisirten Himbeersaftlösung (5 ccm käuf. Syrup¹⁾ auf 95 ccm dest. Wassers) beschickt. Den einzelnen Gläsern wurden nun verschiedene, durch mehrmaliges Umkrystallisiren gereinigte unorganische Salze oder Salzgemische, je ca. 0,05%, beigegeben, nochmals sterilisirt, nach dem Erkalten mit Euglenen (Form α) geimpft und in helles diffuses Tageslicht gestellt.

Schon nach 8 Tagen zeigten die einzelnen Kulturen bedeutende Unterschiede in der Quantität und in der grünen Färbung der Euglenen. Die Differenzen steigerten sich rasch und nach etwa 14 Tagen ergab sich mit Deutlichkeit folgendes Resultat:

1. In Himbeersaft ohne Zusatz von Salzen (3 Kulturen) oder bei blosser Zugabe von KH_2PO_4 (2 K.), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (1 K.), MgSO_4

1) Gewiss nicht immer unverfälschter Himbeersaft! In garantirt echtem, nur mit Zucker gekochtem Saft werden die Euglenen ganz bedeutend schöner grün, immerhin nicht so schön, wie z. B. in Aepfelsaft. Frische Himbeeren konnte ich mir damals (November) nicht verschaffen.

(2 K.), NaCl (1 K.), KNO₃ (2 K.) bildeten die Euglenen einen ganz weissen, höchstens gelben Bodensatz (Form γ) und hatten sich relativ nur sehr schwach (am besten in den Kulturen mit KNO₃) vermehrt; die Paramylonbildung war ausnahmslos abnorm stark, das Plasma mit Excretkörnchen gefüllt und die Organismen entschieden einem langsamen Tode verfallen.

2. Im Himbersaft, welcher NH₄NO₃ (2 K.), oder NH₄Cl (3 K.), (NH₄)₂SO₄ (2 K.), (NH₄)H₂PO₄ (2 K.) enthielt, hatte sich eine reiche Euglenenflora entwickelt. Die Chloroplasten waren in typischer Weise ausgebildet und die Flagellaten bevölkerten in dichten Schaaren die ganze Flüssigkeit, nicht nur den Boden des Glases.

3. Besonders günstig wirkte selbstverständlich die Anwesenheit von Stickstoff- und Phosphorverbindungen. Die grösste Zahl von Euglenen enthielten zwei Kulturen, von denen die eine mit (NH₄)₂SO₄ + KH₂PO₄ + MgSO₄, die andere mit NH₄H₂PO₄ + MgSO₄ ausgerüstet war.

Diese Versuche sprechen zu Gunsten der Annahme, dass die Ergrünung der farblosen Form resp. die Ausbildung der Chloroplasten nur bei Gegenwart von N- und zwar Ammonium-Verbindungen geschieht. Immerhin steht die Hypothese einstweilen noch auf schwachen Füßen und muss erst durch weitere Experimente gestützt werden.

2. Das Farbloswerden der grünen Form.

Man kann hauptsächlich auf zwei Arten aus grünen Euglenen farblose erzeugen; entweder durch Verdunkelung einer vorher am Licht gehaltenen Kultur, oder am Licht durch Zugabe sehr reicher organischer Nahrung.

1. Farblose Euglenen durch Verdunkelung einer vorher am Licht gehaltenen Kultur. Wenn man eine Kultur der *E. gracilis* a in organ. Nährlösung aus dem Licht ins Dunkle stellt, so verschwindet die grüne Färbung der Euglenen allmählich. Die Chromatophoren verlieren ihren polygonalen Umriss, werden kleiner und runden sich kreisförmig ab; zwischen ihnen werden grosse Plasmalücken sichtbar. Der Chlorophyllgehalt nimmt stetig ab und zuletzt zeigen die Organismen nur noch kleine mehr oder weniger deutlich erkennbare Leukoplasten. Das Paramylon wird in den ersten Tagen nach der Verdunkelung aufgelöst, später dann wieder

gebildet. Im Minimum sind zu diesem Versuche 10 Tage Lichtabschluss erforderlich.

Das Experiment gelingt selten tadellos. Die grüne Farbe der Kultur verblasst zwar im Dunkeln schnell sehr beträchtlich; aber die einzelnen Euglenen behalten oft noch lange ihr grünes Aussehen bei. Die Form α wird zu β und nur wenige Individuen zur typischen Form γ . Im Plasma häufen sich gewöhnlich viele rothe Degenerationsproducte des Chlorophylls an. Es scheint also, dass der Chlorophyllfarbstoff durch die Dunkelheit zerstört wird, ins Plasma übertritt und vielleicht zuletzt durch den Membrantrichter ausgeschieden wird.

Einfacher, und stets mit grösster Sicherheit, gelangt man auf etwas modificirtem Wege zum gewünschten Ziele. Man impft eine sterilisirte organische Nährlösung mit der rein grünen Form α und stellt die Kultur ins Dunkelzimmer oder noch besser in einen verdunkelten Thermostaten; dann enthält oft schon nach 7—14 Tagen jeder Flüssigkeitstropfen viele, und zwar vollkommen farblose Euglenen von der Form γ . Infolge einer fortgesetzten Vertheilung des Chlorophylls auf schliesslich viele Tausende von Nachkommen, besitzen die Euglenen nur noch kleine Leukoplasten; jedenfalls findet im Dunkeln keine Neubildung des Pigments und wohl auch eine Reduction der Bildung von Stromasubstanz statt.

2. Farblose Euglenen am Licht. Wenn man *E. gracilis* α aus einer ziemlich erschöpften Nährlösung in eine frische sehr reiche organische Flüssigkeit überträgt, aber am Lichte belässt, so treten namentlich in den ersten paar Tagen der jungen Kultur neben der typischen Form α , und mit ihr durch alle Uebergänge der Form β verbunden, sehr viele ganz farblose Individuen auf; nicht selten beträgt ihre Zahl weit mehr als die Hälfte aller anwesenden. Mit dem allmählichen Verbrauche der organischen Nahrung (oder mit der Gewöhnung an die concentrirte Lösung) wird der Procentsatz der ungefärbten Exemplare rasch kleiner und nach kürzerer oder längerer Zeit findet sich nur noch die für Lichtkulturen charakteristische Form α').

Am Licht farblose Euglenen kann man leicht in conc. Erbsenwasser und sehr regelmässig während der ersten Tage in Fleisch-

1) Parallele Erscheinungen beobachtete Krüger (l. c.) bei *Chlorella protothecoides* und *Chlorothecium saccharophilum*; die grüne Farbe dieser Algen tritt erst mit Erschöpfung des Nährsubstrates deutlich hervor.

extractlösung constatiren. Es ist so gut wie ausgeschlossen, dass die letztgenannte Flüssigkeit etwa in Folge ihrer dunkeln Farbe das Ergrünen verhindert. In ebenso braun gefärbtem Heu- oder Torfdecoct u. s. w. sind die Euglenen immer sehr schön grün und mit zunehmendem Verbrauch der organischen Stoffe geschieht die Ausbildung der Chloroplasten ja auch in Fleischextractlösung.

II. Specielle Angaben.

a) Zusammenstellung der benützten Nährlösungen und Nährböden.

Erläuterungen zur Tabelle.

1. Die beigelegten Angaben über den Nährwerth bezw. die Wachstumsgeschwindigkeit stützen sich auf makroskopische Beurtheilung der Euglenenvermehrung bei Zimmertemperatur. Es genügt dies, um ein annähernd richtiges Bild von der Schnelligkeit des Wachstums in den verschiedenen Nährlösungen zu geben. Genauere Bestimmungen müssten (bei constanter Temperatur) mit Zählapparaten ausgeführt werden und nehmen sehr viel Zeit in Anspruch.

2. Es bedeutet:

s. g. = sehr gut,

g. = gut,

z. g. = ziemlich gut,

r. s. = relativ schlecht,

s. = schlecht,

a = dass keine Rücksicht auf die Bakterien genommen wurde,

b = bakterienfreie Kulturen.

α (*E. gracilis* α) = Kulturen am Licht; also Ernährung rein auto- oder mixotroph.

γ (*E. gracilis* γ) = Kulturen im Dunkeln; also Ernährung rein heterotroph.

3. Die in Klammern gesetzten Nährlösungen dienen zum Vergleich mit der jeweiligen unmittelbar darüberstehenden.

I. Flüssigkeiten.

A. Unorganische Nährlösungen (α , b, r. s.).

1. Knop'sche Nährlösung.

Zusammensetzung: $\left\{ \begin{array}{l} 4 \text{ Th. Ca(NO}_3)_2, \\ 1 \text{ Th. KH}_2\text{PO}_4, \end{array} \right. \left| \begin{array}{l} 1 \text{ Th. MgSO}_4 + 7 \text{ H}_2\text{O}, \\ 1 \text{ Th. KNO}_3. \end{array} \right.$

2. Nährlösung ohne Calcium.

In der Knop'schen Nährlösung statt $\text{Ca(NO}_3)_2$: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{ H}_2\text{O}$.

B. Organische Nährlösungen.

a) Lösungen von bestimmter Zusammensetzung.

α) Flüssigkeiten, die hauptsächlich organische N-Verbindungen enthalten.

1. Pepton (1—10 ‰)	α u. γ	a u. b	s. g.
2. Asparagin (1—2 ‰)	γ	b	z. g.
(Asparagin in Knop'scher Nährlösung)	α	b?	z. g.
3. Protogen (1 ‰)	γ	b	z. g.
(Protogen + Acid. citr. je 1 ‰)	α u. γ	b	g.
4. Liquor ferri albuminati (verdünnt)	γ	a	g.

β) Kohlenhydrate (Zuckerlösungen etc.).

1. Dextrose	α u. γ	b	g.
2. Lävulose	α	b	r. s.
3. Rohrzucker	α u. γ	b?	s.
4. Maltose	α u. γ	b	z. g.
5. Milchzucker	α u. γ	b	z. g.
6. Raffinose	α u. γ	b	z. g.
7. Stärkelösung (Arrowroot)	α u. γ	a	s.
Anhang: Ferrum sacchar.	γ	a	r. s.
Amylum solub. (0,5 ‰)	γ	a	s.
Glykogen (1 ‰)	γ	a	r. s.

γ) Organische Säuren.

1. Acid. citr. (1—2 ‰)	α u. γ	b	r. s.
(Acid. citr. 4 ‰ + 0,5 ‰ Pepton)	γ	b	z. g.

δ) Vollständige Nährlösungen (Pepton + Kohlenstoff). b.

Dieselben enthalten:

1. Pepton (N-Quelle).
2. Kohlenstoff $\left\{ \begin{array}{l} \text{CO}_2 \text{ am Licht } (\alpha). \\ \text{Zucker oder organische Säuren im Dunkeln } (\gamma) \text{ (oder am Licht } [\alpha]). \end{array} \right.$
3. Unorganische Salze.

Ausgezeichnete Nährlösungen waren z. B.:

1.	$\left\{ \begin{array}{l} 0,5 \text{ Pepton,} \\ 0,5 \text{ Traubenzucker,} \\ 0,2 \text{ Citronensäure,} \\ 0,02 \text{ MgSO}_4 + 7 \text{ H}_2\text{O, oder} \\ 0,05 \text{ KH}_2\text{PO}_4, \\ 100 \text{ Wasser.} \end{array} \right.$	2.	$\left\{ \begin{array}{l} 1,00 \text{ Pepton,} \\ 0,40 \text{ Traubenzucker,} \\ 0,40 \text{ Citronensäure,} \\ 0,02 \text{ MgSO}_4 + 7 \text{ H}_2\text{O,} \\ 0,05 \text{ KH}_2\text{PO}_4, \\ 0,05 \text{ NH}_4\text{NO}_3, \\ 98,00 \text{ Wasser.} \end{array} \right.$
----	---	----	--

u. s. w.

b) Lösungen von complicirterer und nicht näher bekannter Zusammensetzung.

1. Erbsenwasser	α u. γ	a u. b	s. g.
2. Malzextract (stark verdünnt)	α u. γ	b	g.
(Malzextract + 1 ‰ Acid. citr.)	α u. γ	b	s. g.

3. Kartoffeldecot	α	a	g.
4. Heudecot	α u. γ	a u. b	s. g.
5. Torfdecot	α u. γ	a u. b	g.
6. Mistdecot	γ	a	r. s.
7. Fleischwasser	α	a	z. g.
8. Fleischextractlösung	α u. γ	a u. b	s. g.

a) Fruchtsäfte.

1. Pflaumensaft	α u. γ	a (b)	g.
2. Aepfelsaft	α u. γ	b	g.
3. Johannisbeersaft	α u. γ	b	s. g.
4. Traubensaft (2 Weinbeeren auf 50 g H ₂ O)	γ	b	g.
5. Alkoholfreier Wein (zur Hälfte verdünnt)	γ	b?	z. g.
6. Himbeersaft	α u. γ	b	r. s.
(Himbeersaft + NH ₄ -Verbindungen)	α	b	s. g.
7. Kirschensaft	α	b	r. s.

II. Feste Substrate (Nährböden).

1. Gelatine (5—20 %)	α u. γ	b	g.
2. Gelatine mit Pepton	α u. γ	b	s. g.
3. Gelatine mit Pflaumensaft	α u. γ	b	s. g.
4. Agar-Agar (1 %) + Pepton oder Pflaumensaft	α u. γ	b	g.
(Agar-Agar 1 %)	α u. γ	b	s.
5. Infusorienerde mit vollständiger Nährlösung	α	b?	s. g.
6. See- und Quarzsand mit Nährlösung	α	b	z. g.
7. Kartoffelscheiben	α	b?	z. g.

Zusammenstellung einiger sehr guter Nährlösungen

(bakterienfreie Kulturen, Zimmertemperatur).

1. Erbsenwasser (2 %) + Acid. citr. (1 %). α u. γ .
2. Pepton (1—2 %). α u. γ .
3. Himbeersaft (5 Th. käufl. Syrup + 95 Th. Wasser) + je ca. 0,05 %: (NH₄)₂SO₄, KH₂PO₄, MgSO₄. α .
4. Fleischextract von Liebig (2proc. Lösung). α (u. γ) (für beschränkte Zeit).
5. Vollständige Nährlösungen (s. Tabelle).

b) Besprechung einzelner Fälle.

1. Autotrophe Lebensweise.

1. Knop'sche Nährlösung. Die Euglenen sind darin in typischer Weise ausgebildet, homogen grün gefärbt; der Gehalt an Paramylon ist mässig stark; die Schwimm- und Metaboliebewegungen sind lebhaft. Vermehrung schwach.

2. Ebenso verhielt sich *E. gracilis* in einer Nährlösung, die annähernd Ca-frei war. Die Frage, ob das Ca zu den unentbehrlichen Elementen gehört oder nicht, wurde nicht gelöst, weil das Wachsthum in unorganischen Salzlösungen zu schwach ist, als dass sich mit Sicherheit bei kleinen Abänderungen in der chemischen Zusammensetzung auch die Unterschiede in der Schnelligkeit der Vermehrung constataren liessen (vergl. die exacten Versuche von Molisch 95).

3. Wahrscheinlich liessen sich unter Zuhilfenahme von Ammoniumsalzen anorganische Nährlösungen zusammensetzen, die bedeutend geeigneter wären als die Knop'sche. Ich bedaure, in dieser Beziehung nicht viele Versuche angestellt zu haben; doch unterliegt es keinem Zweifel, dass die *E. gracilis* auch bei der bestmöglichen Combination von unorganischen Salzen nie so gut gedeiht wie in einer geeigneten organischen Flüssigkeit.

2. Mixotrophe und heterotrophe Lebensweise.

Die meisten organischen Nährlösungen wurden sowohl zu Licht- als zu Dunkelkulturen angewandt; im ersten Fall, um die Euglene mixotroph, im zweiten um sie heterotroph zu ernähren. Das Folgende soll nur die interessanteren Fälle hervorheben, bald das Verhalten der Form α , bald dasjenige der Form γ berücksichtigen.

1. Kultur in Zuckerlösungen. Die Thatsache, dass reine Zuckerlösungen der Euglene als Nahrung dienen können, mit Hilfe deren sie sich ziemlich lebhaft vermehrt, beweist zunächst, wie schon früher hervorgehoben, die Genügsamkeit dieser Organismen. Allerdings beweist sie zugleich, dass die käuflichen Zuckerarten, auch die reinsten Präparate, einen relativ grossen Procentsatz Verunreinigungen an Salzen und N-Verbindungen enthalten. In 2% Traubenzuckerlösung (Traubenzucker chemisch rein von König), besonders bei Zugabe von Citronensäure, vermehrt sich *E. gracilis* ziemlich gut, jedenfalls besser als in Knop'scher Nährlösung. Dasselbe gilt, in etwas geringerm Grade, für Maltose-, Milchzucker- und Raffinoselösungen. In Rohrzuckerlösung (Rohrzucker chemisch rein von König) ist dagegen die Vermehrung schlecht. Sie steigert sich gleich ausserordentlich, wenn Asparagin oder nur eine Spur Pepton zugesetzt wird. Bekanntlich ist der Rohrzucker bedeutend reiner und wohl daher, vielleicht auch weil er zuerst invertirt werden muss, der Euglene weniger zusagend als der Traubenzucker.

Vom Habitus der Euglene gilt (mit Ausnahme der Kultur in Traubenzuckerlösungen) das, was später von ihrer Kultur in reinen Himbeersaftlösungen gesagt werden soll.

2. Organische Säuren. Es überrascht auf den ersten Blick ausserordentlich, dass die in der Natur wahrscheinlich fast immer grüne *E. gracilis* wie ein Schimmelpilz mehrere Wochen lang in einer Lösung der reinsten käuflichen Citronensäure (Präparat von Merck) wachsen und sich vermehren kann. Dann erst macht sich der Mangel an den unentbehrlichen Salzen und N-Verbindungen fühlbar.

3. Pepton. Es wurden 1—2% Lösungen von Pepton „depur.“ oder „puriss.“ (von Grübler) benutzt. Die *E. gracilis* wächst darin, besonders am Licht (Kohlenstoffquelle!) monatelang in üppiger Weise. Sehr vorteilhaft ist der Zusatz von 1% Citronensäure. Die Euglenen sind in der Regel in Peptonlösungen ziemlich arm an Paramylon und häufig von schwach spindelförmiger Gestalt (vgl. Fig. 3, Taf. VI).

Leicht können auch 2-, 4-, 5- bis 10 proc. Lösungen verwendet werden. Die Euglene verhält sich in der 10 proc. Lösung wesentlich wie in der 1 proc.; nur ist in concentrirten Lösungen die Zahl der Chromatophoren oft sehr gross, bis zu 30—40 Stück in einer einzigen Zelle. Ihre Farbe ist dann ein intensives Grün, aber die Grösse sehr gering, so dass zwischen den einzelnen Scheibchen weite farblose Zwischenräume von Protoplasma sichtbar werden.

4. Fleischextract von Liebig ist in Lösungen von 1—2% (Maximum 8%) ein sehr gutes Nahrungsmittel. Die *E. gracilis* entwickelt sich darin, namentlich am Licht und bei guter Temperatur, zu ungeheuren Schaaren. Seltsamer Weise ist sie trotz der Beleuchtung zuerst ganz farblos und sieht vollständig wie die im Dunkeln erzeugte Form γ aus. Die vorhandenen organischen Stoffe reichen aber nicht lange für eine so starke Vegetation aus und nun werden die Organismen in kurzer Zeit schön grün. Die Leukoplasten verwandeln sich in Chloroplasten, die Form γ wird zu α und dementsprechend nehmen die von den Euglenen überzogenen Gefässwände eine tiefgrüne Farbe an. Bei heller Belichtung steigen viele Sauerstoffbläschen an die Oberfläche der Kultur, ein deutliches Zeichen, dass energisch Kohlensäure assimiliert wird. Schliesslich sind aber die meisten Nahrungsstoffe, wenigstens die zum Leben unbedingt nothwendigen, verbraucht und die Euglenen

encystiren sich oder gehen zu Grunde, werden event. von Bakterien überwuchert, da es nur schwer gelingt, in diesen Lösungen die Spaltpilze ganz auszuschliessen.

5. Beste Nährlösungen von bekannter chemischer Zusammensetzung. Die besten, und bei länger andauernder Kultur günstiger als Fleischextract wirkenden, Kulturflüssigkeiten sind diejenigen, welche ausser Pepton eine Kohlenstoffverbindung (z. B. Traubenzucker oder Citronensäure) und unorganische Salze enthalten.

Es wurde nicht versucht, die vortheilhafteste Combination und Concentration der genannten Stoffe ausfindig zu machen. Die Euglene wächst z. B. vorzüglich in den zwei in der Tabelle aufgeführten „vollständigen“ Nährlösungen.

6. Flüssigkeiten von nicht näher bekannter Zusammensetzung.

a) Erbsenwasser. Das Decoct von gelben Erbsen ist vortreflich zur Kultur geeignet. Man sterilisirt etwa zwei Erbsen in 50—100 ccm Wasser während 2—3 Stunden und impft dann mit Euglenen. Für genauere Versuche werden die Erbsen abgewogen und je 1—2 g auf 100 g Wasser genommen. Ich bezeichne solches Erbsenwasser kurz als ein-, zwei-, . . . procentig. Die Vermehrung der Form α ist darin so kräftig, namentlich in der wärmeren Jahreszeit und bei guter Beleuchtung, dass in kurzer Zeit, oft schon nach zwei Wochen, das Wasser des Kulturgefässes durch eine enorme Schaar Euglenen prächtig grün gefärbt wird.

Vermuthlich ist, abgesehen vom reichen Gehalt der Flüssigkeit an Eiweiss und Stärke, die Vermehrung deshalb so energisch, weil die nöthigen Aschenbestandtheile, spec. die Phosphorsäure, an organische Verbindungen geknüpft sind.

Bei höheren Concentrationen, in 4- und mehrproc. Erbsenwasser tritt die grüne Farbe der Form α in der Regel sehr zurück. Man kann fast immer in jungen (Licht-)Kulturen viele ganz oder beinahe farblose Euglenen, die Formen β und γ , erst später vorwiegend α finden.

b) Heuextract. Die Lösungen wurden jeweilen so gewählt, dass sie in einer Schicht von einigen Centimetern Dicke eine dunkelbraunrothe Farbe zeigten. Die Form α bildet darin ihre Chloroplasten sehr schön aus und erscheint gewöhnlich prächtig gelbgrün gefärbt.

c) Fruchtsäfte. Verdünnte Fruchtsäfte, wie Pflaumensaft, Johannisbeersaft, Aepfelsaft u. s. w. sind vorzügliche Nährlösungen für die mixotroph oder heterotroph lebende *E. gracilis*. Eigenthümlich ist, dass in verdünntem käuflichen Himbeersaft die Form α auch bei heller Sonnenbeleuchtung nicht grün wird. Sie bleibt entweder absolut farblos, oder ist (Mehrzahl der Individuen) sehr schwach gelb bis grünlich gefärbt. Erst bei starker Vergrösserung lässt sich über den Paramylonkörnern ein schwacher grüner Schimmer bemerken. Die Chromatophoren erweisen sich bei näherer Untersuchung als sehr kümmerlich entwickelt und kaum functionsfähig. Auch zeigt die enorme Anhäufung von Paramylon und Excretkörnchen, dass die Organismen pathologisch verändert sind. Höchst wahrscheinlich liegt der Grund in dem minimalen Gehalt der Flüssigkeit an unorganischen Salzen und zwar Stickstoffverbindungen; denn die Euglenen vermehren sich ausgezeichnet und ganz normal, wenn dem Himbeersaft Ammoniumsalze oder Asparagin oder Pepton beigelegt werden. Vergl. p. 36.

d) Torfdecoct. In Torfdecoct von dunkelgelber Farbe wächst *E. gracilis* im Dunkeln und am Licht gut, weungleich nicht so kräftig wie z. B. in Heudecoct. Der Körper ist meist nur von geringer Grösse, sehr schmal im Vergleich zur Länge und während der ersten acht Tage der Kultur oft total frei von Paramylon. Der Zellinhalt (Form α) besteht dann nur aus Plasma, Kern, Stigma und wohlentwickelten Chloroplasten. In etwas späterer Zeit sind die Schalen der Paramylonkerne äusserst deutlich und erst nach und nach füllt sich auch die übrige Zelle mit Reservestoff.

e) Mistdecoct. Im Mistdecoct (ziemlich schwache Lösung und Dunkelkultur) fand sich in der ersten Zeit eine sehr zierliche, lebhaft schwimmende Form der *E. gracilis* γ vor. Der Körper war sehr schmal, lang cylindrisch, das Schwanzende schwach rautenförmig zugespitzt und die ganze Zelle mit grossen, scharf contourirten Paramylonkörnern dicht angefüllt. Nach einiger Zeit machte diese elegante Form schwerfälligen, sich langsam metabolisch bewegendenden dicken Euglenen Platz, welche bald zu Grunde gingen oder sich encystirten.

3. Anhang.

Auf festen Substraten ist das Wachsthum der *E. gracilis* durchschnittlich bedeutend langsamer und die Vermehrung viel geringer als in Flüssigkeiten. Dies erklärt sich schon daraus, dass

die Organismen im zweiten Fall in Folge ihrer Schwimmbewegung und wegen der leichten Vermischung der Stoffe fortwährend mit frischer Nahrung versorgt werden. Vermuthlich wirkt aber auch die Hemmung der gewohnten freien Beweglichkeit hindernd auf die Stoffwechselprocesse und damit ungünstig auf die ganze Constitution des Körpers.

Die *E. gracilis* lässt sich relativ gut auf 5—20 % Gelatine kultiviren; am Licht, und wenn noch Nährstoffe, Pepton oder Pflaumensaft zugesetzt werden, bekommt man bald kleine palmellen-ähnliche Euglenenhäufchen. Die Membran theilt sich bei genügender Consistenz der Unterlage im ruhenden, nicht, wie sonst, im beweglichen Zustande. Die Einzelheiten sind bei der Besprechung der Theilungsvorgänge bereits angegeben worden (p. 19 ff.).

Sehr hübsche traubige Euglenenkolonien der Form α bekommt man auf geglühter Infusorienerde, welche mit einer passenden Nährlösung feucht gehalten wird. Die dunkelgrünen Häufchen stechen dann sehr lebhaft gegen die schneeweiße Unterlage ab.

Mit Nährlösung getränkter Seesand und Quarzsand können eigentlich nicht zu den festen Substraten gerechnet werden; die Euglenen schwimmen ungehindert in der die Lücken des Bodens ausfüllenden Nährlösung umher, weil die Sandkörner im Vergleich zu den Organismen viel zu gross sind.

Feuchter Torf und Lehm, auch Kartoffelscheiben sind keine günstigen Kultursubstrate für *E. gracilis*, übrigens auch ihrer Undurchsichtigkeit halber zur leichten Beobachtung unter dem Mikroskop nicht geeignet.

C. Stoffwechselproducte.

Von den Stoffwechselproducten der Euglenen wissen wir zur Zeit noch wenig. Das Plasma enthält fast immer eine als Paramylon bezeichnete Substanz. Dieselbe ist nach Gottlieb (51) ein Kohlehydrat von derselben empirischen Zusammensetzung wie die Stärke. Das chemische und z. Th. auch das physiologische Verhalten des Paramylons wurde ferner von Klebs (83, p. 269—273), Bütschli (87, p. 728), Schmitz (84), Khawkinge (85 und 86) näher untersucht.

Das Paramylon ist nicht wie die Bildung von Stärke an die Gegenwart von Chromatophoren gebunden, sondern es entsteht frei aus dem Cytoplasma. Ueber seine Bedeutung im Lebenshaushalt der

Euglenenzelle weiss man noch wenig; doch geht gegenwärtig die Ansicht allgemein dahin, dass es einen Reservestoff darstellt (cfr. insbesondere Khawkine, 85, p. 238). Auch die Beobachtungen, die ich an *E. gracilis* machen konnte, sind mit dieser Auffassung sehr gut vereinbar; leider wurde trotz der vielen Kulturversuche nur wenig Neues entdeckt.

Die Paramylonkörner der *E. gracilis* sind in der Regel kurz stäbchenförmig, oft auch rundlich, bei dichter Lagerung schwach polyedrisch und von sehr verschiedener Grösse. Die grössten Körner hatten eine Länge von 4,8, eine Breite von 3,2 μ .

Der Gehalt der Euglenen an Paramylon schwankt sehr beträchtlich, doch ist es bis jetzt nicht geglückt, analog wie bei der Stärke, einen bestimmten regelmässigen Zusammenhang zwischen Assimilation und Paramylonproduction nachzuweisen. Bei *E. gracilis* scheint die Bildung des Reservestoffs nur in geringem Grade von der Beleuchtung abhängig zu sein. Die Formen γ enthalten sogar meist mehr als die Form α ; selten ist der Körper ganz frei davon, am ehesten in den paar ersten Tagen einer Kultur; gewöhnlich, von den früher besprochenen pathologischen Fällen abgesehen, ist er mit vielen Körnern gefüllt. Die Kernzone bleibt in der Regel am längsten hyalin, d. h. paramylon- und bei der Form α auch chloroplastenfrei.

Sehr viel Paramylon ist in den Dauerzuständen aufgespeichert.

Eine Auflösung d. h. einen Verbrauch des Reservestoffs konnte ich zu wiederholten Malen, aber nicht ausnahmslos constatiren:

1. während oder kurz nach der Keimung der Dauercysten;
2. bei der Verdunkelung einer zuerst am Licht gehaltenen Kultur; umgekehrt
3. wenn die Euglenen aus dem Dunkeln an das Licht gestellt wurden und ergrünen;
4. wenn man sie aus neutralen Flüssigkeiten in verdünnte Säurelösung übertrug.

Von andern Stoffwechselproducten sind in erster Linie die sogenannten Excretkörnchen zu nennen, über deren Chemie und physiologische Bedeutung man heutzutage noch kaum etwas weiss (siehe Bütschli, 87, p. 739, Klebs, 83, p. 273). Sie häufen sich, wenigstens bei *E. gracilis*, besonders unter ungünstigen Lebensbedingungen in grösserer Menge an.

Fettes Oel tritt nur selten in erheblicher Quantität auf. Nach Klebs findet es sich hauptsächlich in den Dauercysten.

Schlussbemerkungen.

Es ist schon bei der Besprechung der einzelnen Abschnitte der vorliegenden Arbeit darauf hingewiesen worden, dass die Darstellung in manchen Punkten lückenhaft sei; dies möchte ich am Schlusse noch einmal ausdrücklich hervorheben.

Viele, zum Theil wichtige und interessante Fragen konnten nur flüchtig berührt werden; oder ich musste mich einstweilen damit begnügen, mit wenigen Worten auf sie hinzuweisen. Einige Probleme liessen sich wahrscheinlich ohne besonders grosse Schwierigkeiten lösen, würden allerdings viel Zeit in Anspruch nehmen. So wäre z. B. ein eingehendes Studium der Beziehungen zwischen Wachsthumsgeschwindigkeit und Temperatur gewiss lohnend. Ferner weiss man über die feinere Structur der Chloroplasten, über die Entstehung und Function der Pyrenoide, über das Paramylon und die andern Producte des Stoffwechsels relativ noch sehr wenig. Die, übrigens auch erst theilweise untersuchte, Transformation der Leukoplasten in Chloroplasten hängt wiederum aufs innigste zusammen mit der Frage nach den Bedingungen der Chlorophyllbildung. Auch ist noch zu erwähnen, dass oft pathologisch veränderte, zum Theil in Desorganisation begriffene und mit ganz eigenthümlichen räthselhaften Zellbestandtheilen ausgerüstete Exemplare der *E. gracilis* beobachtet wurden.

Eine der anziehendsten und gewiss dem Experiment zugänglichen Aufgaben, welche das grosse unerschöpfliche Reich der niedern Organismen dem Forscher stellt, dürfte darin bestehen, die Gruppe der Euglenoidinen, später auch die andern Flagellatenfamilien, in Bezug auf ihre ernährungsphysiologischen Eigenthümlichkeiten zu studiren, die vielen Uebergänge von Autophyten zu Saprophyten klarzulegen und darauf gestützt, eine neue, auch physiologisch begründete Gruppierung der mannigfaltigen Einzelerscheinungen vorzunehmen.

Zusammenstellung der wichtigsten Resultate.

1. *Euglena gracilis* kann entweder rein autotroph oder heterotroph ernährt werden.

Dies ist ein neuer Beweis dafür, dass keine stichhaltigen Grenzen zwischen den Gattungen *Euglena* und *Astasia* gezogen werden können.

2. Bei Lichtabschluss sind die Chromatophoren in Form kleiner Leukoplasten, am Licht als grosse Chloroplasten ausgebildet; die *Euglene* erscheint im ersten Fall farblos, im zweiten grün gefärbt.
 3. Die farblose Form wandelt sich am Licht in die grüne Form um; gleichzeitig vertauscht sie die heterotrophe Ernährung mit der mixotrophen oder der autotrophen.
 4. Aus der grünen Form kann die farblose wesentlich auf zwei Arten entstehen:
 - a) in organischen Nährlösungen durch Abschluss des Lichtes;
 - b) am Licht in sehr reicher organischer Flüssigkeit.
 5. Die *Euglena gracilis* erträgt relativ sehr grosse Mengen freier Säure; diese Eigenschaft wurde mit Erfolg zur Gewinnung bakterienfreier Kulturen benützt.
 6. Die Zelltheilung vollzieht sich in Flüssigkeiten stets im beweglichen Zustand, nur auf genügend festen Substraten in Ruhe, innerhalb einer dünnen Schleimhülle.
-

Literatur-Verzeichniss.

87. O. Bütschli, Protozoen. Abth. II: Die Mastigophoren. 1883—87.
 86. F. Blochmann, Die mikr. Thierwelt des Süsswassers. Braunschweig 1886.
 94. — —, Kernteilung bei *Euglena*. Biol. Centralbl. 1894, XIV. Bd., p. 194.
 90. M. W. Beyerinck, Kulturversuche mit Zoochlorellen etc. Botan. Zeitung 1890.
 98. — —, Notiz über *Pleurococcus vulg.* Centralbl. f. Bakter., II. Abth., 4. Bd., 1898.
 89. A. P. Dangeard, Le Botaniste I, 1889. Recherches sur les *Cryptomon.* et les *Euglenae*.
 96. Y. Delage et E. Hérouard, Traité de Zoologie concrète. T. I: La cellule et les Protozoaires. Paris 1896.
 82. Th. W. Engelmann, Ueber Licht- und Farbenperception nied. Organismen. Pfüger's Arch. f. d. ges. Phys., Bd. 29, 1882.
 85. C. Fisch, Untersuchungen über einige Flagellaten u. verw. Organismen. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 42, 1885.
 94. A. Fischer, Ueber die Geisseln einiger Flagellaten. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. XXVI. 1894.
 94. Raoul Francé, Die Polytoomeen. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. XXVI, 1894.
 93. Rud. Franzé, Zur Morphol. u. Physiol. der Stigmata der Mastigophoren. Zeitschr. f. wiss. Zoologie, Bd. 56, 1893.
 51. J. Gottlieb, Ueber eine neue mit Stärkemehl isom. Substanz. Ann. d. Chemie u. Pharmacie, Bd. 75, 1851.
 95. J. Keuten, Die Kernteilung von *Euglena viridis* Ehb. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 60, 1895.
 83. G. Klebs, Ueber die Organis. einiger Flagellatengruppen etc. Unters. d. Tüb. Inst., I, 1883.
 92. — —, Flagellatenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 55, 1892.
 96. — —, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen u. Pilzen. Jena 1896.
 85. W. Khawkinge, Recherches biol. sur *l'Astasia ocellata* et *l'Euglena vir.* I.: *L'Astasia ocellata*. Ann. des Sc. nat. Zool., 6^e Série, T. 19, 1885.
 86. — —, Rech. etc. II.: *L'Euglena viridis*. Ann. des Sc. nat. Zool., 7^e Série, T. 1, 1886.
 88. E. Maupas, Recherches sur la multiplication des infusoires ciliés. Arch. de Zool. expér. et gén. II. Série, Vol. 6, 1888.
 97. H. Meyer, Untersuchungen über einige Flagellaten. Revue Suisse de Zool., Bd. V, 1897.
 88. W. Migula, Ueber den Einfluss stark verdünnter Säurelösungen auf Algenzellen. Inang.-Diss. Breslau 1888.
 95. H. Molisch, Die Ernährung der Algen. I. Sitzungsber. d. kais. Akad. zu Wien, Bd. 104, I, 1895.
 96. — —, Die Ernährung der Algen. II. Ebendasselbst, Bd. 105, I, 1896.
 97. W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie, II. Aufl., I. Bd., 1897.
 82. Fr. Schmitz, Die Chromatophoren der Algen. Bonn 1882.
 84. — —, Beiträge zur Kenntniss der Chromatophoren. Jahrb. f. wiss. Botanik, Bd. XV, 1884.
 78. Fr. v. Stein, Der Organismus der Infusionsthier, III, 1. Hälfte, Flagellaten. Leipzig 1878.
-

Erklärung der Abbildungen.

Die Figuren sind Skizzen nach freier Hand; die eingeklammerten Zahlen geben ungefähr die Vergrößerung an.

N = Zellkern, N' = Nucleolus, P = Paramylon, P K = Paramylonkerne, Ch = Chromatophoren, H V = Hauptvacuole, T = Membrantrichter.

Tafel VI.

- Fig. 1. *E. gracilis*. Form α (630).
 - Fig. 2. Eine andere Form α (700).
 - Fig. 3. Form β (650).
 - Fig. 4. Form γ (630).
 - Fig. 5. Eine junge Dauercyste der Form α mit Zweitheilung des Inhalts (1000).
 - Fig. 6. Keimung einer Dauercyste der Form α (1000).
 - Fig. 7. Dauercyste der Form γ (1000).
 - Fig. 8. Form der Metabolie auf 1 % Agar-Agar am Licht (700).
 - Fig. 9. Euglenenhäufchen auf 20 % Gelatine am Licht (200).
 - Fig. 10. Simultane Dreitheilung im beweglichen Zustand (1000).
-

Inhalts-Verzeichniss.

	Seite
Einleitung	1
Allgemeiner Theil	3
Specieller Theil	9
I. Methodisches	9
II. Morphologie der Species	12
A. Der Bau des Körpers	12
Körperform im Allgemeinen. Schwimmbewegung und Metabolie	12
Dimensionen der Zelle	13
Stigma	13
Chromatophoren	14
B. Die Zelltheilung	16
C. Die Dauercysten	23
III. Die Ernährung	26
A. Das Verhalten gegen freie Säure	26
B. Die Art und Weise der Ernährung	30
I. Allgemeines	31
a) Uebersicht über die verschiedenen Ernährungsweisen	31
b) Die Umwandlung der farblosen <i>Astasia</i> - in die grüne <i>Euglena</i> - Form und umgekehrt	33
II. Specielle Angaben	38
a) Zusammenstellung der benützten Nährlösungen und Nährböden	38
b) Besprechung einzelner Fälle	40
C. Stoffwechselproducte	45
Schlussbemerkungen	47
Zusammenstellung der wichtigsten Resultate	47
Literatur-Verzeichniss	48
Erklärung der Abbildungen	49



